N° d'Ordre 66

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Claude GUICHARD

PHARMACIEN
INTERNE DES HOPITAUX
LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
Né à Ste-Foy-la-Grande (Gironde), le 11 novembre 1928

1re **THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES GLUCIDES DE LA VIGNE ET DE CERTAINS FRUITS.

2e **THÈSE.** — L'AOUTEMENT DE LA VIGNE.

Soutenues le 25 novembre 1953 devant la Commission d'examen :

Président M. GENEVOIS, professeur.

Examinateurs MM. DAVID, professeur.
RIBEREAU-GAYON, maître de Conférences.
VITTE, professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie.

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
4, RUE DANTE, 4
1953

N° d'Ordre 66

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Claude GUICHARD

PHARMACIEN
INTERNE DES HOPITAUX
LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
Né à Ste-Foy-la-Grande (Gironde), le 11 novembre 1928

1re **THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES GLUCIDES DE LA VIGNE ET DE CERTAINS FRUITS.

2e **THÈSE.** — L'AOUTEMENT DE LA VIGNE.

Soutenues le 25 novembre 1953, devant la Commission d'examen :

Président	M. GENEVOIS, professeur.
Examinateurs	MM. DAVID, professeur. RIBEREAU-GAYON, maître de Conférences. VITTE, professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie.

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
4, RUE DANTE, 4
1953

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

Doyen ..... BRUS

Doyens honoraires.

PADE ..... Recteur honoraire de l'Académie d'Aix
PICART ..... Membre de l'Institut
DUPONT ..... Directeur de l'Ecole Normale Supérieure
CHAINE .....
MERCIER ....

Professeurs honoraires.

PADE ..... Recteur honoraire de l'Académie d'Aix
BOUNHIOL ..
DEVAUX ..... Membre de l'Institut
DUPONT ..... Directeur de l'Ecole Normale Supérieure
PICART ..... Membre de l'Institut
DAURE ..... Recteur de l'Académie de Caen.
CHAINE .....
KASTLER .... Professeur à la Sorbonne
QUELET ..... Professeur à la Sorbonne

Professeurs ..

MERCIER .... Radioélectricité
MILLOUX .... Calcul infinitésimal
DANGEARD ... Botanique
GENEVOIS ... Chimie Biologique et Physiologie végétale
CAU ..... Physique expérimentale
BRUS ..... Chimie
AVEL ..... Zoologie et Physiologie animale
ROUSSET ..... Physique générale
ROGER ..... Mécanique rationnelle
WEILL ..... Anatomie comparée et Embryogénie
SERVANT .... Physique
DUFRESNOY .. Mathématiques générales
BOUNHIOL ... Biologie animale
PISOT ..... Calcul des probabilités
DAVID ..... Biologie végétale
GAY ..... Minéralogie.
SCHOELLER .. Géologie
CALAS ..... Chimie organique
ALLARD ..... Chimie
GUIZONNIER . Physique
LAMARE ..... Géologie
COLMEZ ..... Mathématiques
PATY ..... Chimie
PACAULT ..... Chimie minérale et chimie physique

Maîtres de conférences honoraires.

ARRIVAUT ..
de PULMALY ..

Maîtres de conférences.

MALVESIN-FABRE Botanique
CAMBAR ..... Biologie générale
RIBEREAU-GAYON Œnologie et chimie agricole
Mlle JOSIEN .. Chimie minérale.
VIGNEAUX ... Géologie.

Secrétaire principal. ARTIGUELONG

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON GRAND-PÈRE ET A MA GRAND'MÈRE

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

Récompense de leurs efforts et de leurs sacrifices. Témoignage de ma profonde affection.

A MON FRÈRE ET A MA BELLE-SŒUR

A MONSIEUR ET MADAME MOLAS

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE ET DE LA FACULTÉ DES SCIENCES

A MES MAITRES DES HOPITAUX

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GENEVOIS

Professeur de Chimie Biologique et de Physiologie végétale
à la Faculté des Sciences.
Officier de l'Instruction Publique.

qui m'a fait le grand honneur de s'intéresser à mon travail et d'accepter de présider cette thèse. Qu'il me soit permis de le remercier pour toute la bienveillance qu'il m'a témoignée. Il m'a sans compter prodigué ses conseils et a permis l'impression de ce travail.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR VITTE

Professeur de Pharmacie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie
Pharmacien de Hôpitaux
Officier d'Académie.

Mon cher Maître,

Dès le début de mes études pharmaceutiques vous m'avez accueilli dans votre laboratoire de la Faculté. Vous m'y avez constamment témoigné une bienveillante amitié. Sous votre conduite éclairée, stimulé par l'exemple que vous me donniez, vous m'avez donné goût à la recherche. Vous avez assuré ma formation scientifique.

J'ai eu la joie de vous retrouver à l'hôpital des Enfants ; je vous y dois mon initiation à la Biologie.

Vous m'avez suggéré le sujet de cette thèse. Puisse ce modeste travail ne pas décevoir la confiance que vous m'avez accordée. Qu'il soit un gage de ma profonde reconnaissance et de mon respectueux dévouement.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE des GLUCIDES DE LA VIGNE et de certains fruits

par M. **Claude GUICHARD**.

RÉSUMÉ

Nous avons étudié les glucides de la vigne dont la connaissance était restée incertaine : Saccharose et Pentoses. Nous avons dans ce but sensibilisé pour le saccharose les techniques chromatographiques de recherche et de dosage ; nous avons indiqué une méthode de purification des extraits végétaux et des liquides de fermentation en vue d'une étude chromatographique correcte de ces glucides. Nous avons étudié la distribution et l'évolution du saccharose dans les divers organes de la vigne ; nous avons montré qu'il représente la principale forme de transport des glucides dans la plante. Nous avons montré ensuite que les pentoses sont essentiellement constitués par de l'arabinose. Ces techniques permettent d'envisager une étude plus approfondie des sucres des fruits en général ; c'est ainsi que nous avons montré la présence dans les pommes de mannose et de xylose à côté des sucres déjà connus.

INTRODUCTION

Les glucides constituent des substances alimentaires d'une très grande importance chez les végétaux, pour la vigne en particulier. Ils jouent un rôle primordial dans le fonctionnement organique de la plante. Formés au cours de la photosynthèse, ils servent de substances énergétiques.

Les glucides de la vigne semblent être représentés pour la majeure partie par le d. glucose et le d. fructose. C'est du moins ce qui ressort de nombreux travaux effectués dans ce sens sur des raisins. Ces deux sucres ont été très bien étudiés ; l'étude de leurs proportions respectives et de leurs variations en fonction de divers facteurs, ont fait l'objet des importants travaux de Gayon et Dubourg [1].

Mais il semble qu'on soit obligé d'admettre aujourd'hui l'existence d'autres sucres : saccharose et divers pentoses.

— L'affirmation par certains de la présence du saccharose au nombre des glucides de la vigne, et la négation par d'autres de son existence, nous a amené à reprendre cette question sur des bases nouvelles. Le désaccord nous semble en effet provenir du manque d'une technique spécifique et sûre pour la recherche et le dosage de ce sucre. Les méthodes utilisées ne permettaient de le séparer du glucose et du lévulose que s'il était en quantités assez importantes. Nous avons mis au point une technique sensible et spécifique. Nous nous sommes ensuite livrés à une étude détaillée du saccharose sur deux plans différents :

a) Tout d'abord au point de vue de la physiologie de la vigne, nous avons voulu montrer que le saccharose est un glucide très important des processus biochimiques de la plante. Il prendrait naissance par photosynthèse et donnerait par dégradation le glucose et le lévulose, sans qu'il soit dit pour cela qu'il donne ces deux sucres en quantités égales par un simple phénomène d'hydrolyse. Nous avons étudié la variation de ses proportions dans les divers organes de la vigne et en fonction des nombreux facteurs qui influent sur la vie et la nature de celle-ci.

b) Ensuite, du point de vue des fraudes, nous avons voulu savoir si la présence du saccharose dans un moût résulte forcément d'une addition frauduleuse de ce sucre en vue d'augmenter le degré alcoolique du vin futur.

— La présence des pentoses peut être mise en évidence, après élimination des sucres fermentescibles. De nombreux auteurs ont montré la présence de pentoses dans des vins qui ont subi une fermentation totale. Nous avons voulu par l'apport de techniques nouvelles étudier la nature et les proportions respectives de ces divers pentoses dans le raisin. Nous avons éliminé la présence gênante des sucres réducteurs en travaillant sur des vins qui ont subi une fermentation totale.

— Nous avons voulu montrer enfin que la technique que nous avons mise au point pouvait être appliquée d'une façon très générale à l'étude des sucres des fruits. Nous avons choisi comme premier témoignage, l'étude des sucres de la pomme à maturité. Nous avons pu montrer l'existence de sucres insoupçonnés jusqu'alors.

LE SACCHAROSE DANS LA VIGNE

HISTORIQUE

Au cours d'une même journée il se formerait par photosynthèse dans les organes verts : du glucose, du lévulose, du saccharose, de l'amidon, sans que l'on sache quel est le premier glucide formé. Le saccharose et l'amidon seraient transformés en oses simples, pour pouvoir être brûlés par respiration ou transportés dans les différents organes de la vigne. Dans ces organes ils pourraient subir une nouvelle condensation en redonnant du saccharose et de l'amidon. Si l'existence du glucose, du lévulose et de l'amidon ne peut être mise en doute. la présence du saccharose, au contraire très discutée, est à l'origine de nombreux travaux dont les résultats ne concordent pas.

Le saccharose dans les feuilles.

Les premiers travaux qui indiquent la présence du saccharose dans les feuilles de vigne sont dus à Petit [2] en 1873. Il montra que des feuilles, dont il n'indique pas la variété, renferment de 17,49 g pour 1000 à 26,55 g p. 1000 de glucose et 9,2 g p. 1000 à 15,8 g p. 1000 de saccharose.

H. Maccagno [3] en 1877 trouve dans les feuilles cueillies le 20 juin 3,77 g p. 1000 de « matières saccharifiables ».

Kayser [4] en 1885 trouve environ 10 g de saccharose par kilogramme de feuilles.

Ross et Thomas [5] montrent la présence de saccharose dans les feuilles au début de la végétation ; ensuite sa proportion diminuerait.

Les travaux de Hilger et Roos [6] en 1887 sont à rapprocher de ceux de Maccagno. Ces auteurs pensent à la présence de saccharose dans les feuilles de vigne.

Entre temps, en 1882, Perrey [7] qui travaille sur des feuilles de haricots, arrive aux conclusions suivantes : « le saccharose paraît tenir directement son origine de l'organisation des éléments atmosphériques et il est probable que la production de l'amidon lui est subordonnée comme celle du glucose. »

Martinand [8] en 1907 étudie les feuilles de la variété « Petit Bouschet ». Il trouve aux mois de juillet et d'août des taux de saccharose de l'ordre de 8 à 10 g p. 1000.

Beaucoup plus tard, en 1931, Paris [9] montre qu'après hydrolyse chlorhydrique d'extraits aqueux de feuilles il obtenait une augmentation de la quantité des sucres réducteurs et une sensible déviation à gauche du pouvoir rotatoire de la solution.

Barbera [10] en 1933 montra l'existence de quantités appréciables de polysaccharides dans les feuilles et les bourgeons de certaines variétés. La méthode spécifique employée par ces auteurs ne laissait aucun doute sur l'existence du saccharose.

Venezia [11] utilise une méthode de recherche tout à fait spécifique et affirme la présence de saccharose dans tous les organes verts de la vigne, à la suite de plusieurs travaux. Cet auteur utilise une méthode d'hydrolyse par l'invertine. Il dose les sucres réducteurs avant et après hydrolyse, et détermine le pouvoir rotatoire des solutions avant et après hydrolyse. Cette méthode, recommandée par Bergellini [12], avait déjà été utilisée par Parisi et Vito [13] pour la détermination du saccharose dans la feuille de betterave, ainsi que par Bourquelot [14]. Venezia trouve des valeurs variables, mais toujours importantes pour le saccharose. C'est ainsi que pour les feuilles de la variété *Couderc* 71-20 il donne la valeur de 11,02 g p. 1000 alors que pour celles de la variété *Trebbiano* il donne la valeur de 4,25 g p. 1000. Ces déterminations portent sur des feuilles du mois d'avril 1934. D'autres expériences lui montrent que la quantité de saccharose des feuilles est en rapport avec l'activité photosynthétique de celles-ci. En effet, pour des feuilles vertes de la variété *Barbera*, il trouve 19,41 g p. 1000 de saccharose, alors que pour les mêmes feuilles jaunies il n'en trouve plus que 1,71 g p. 1000. Ceci lui permet de penser que le saccharose aurait une origine photosynthétique, et serait d'après l'hypothèse de Brown le premier sucre formé par photosynthèse. D'autres travaux effectués par cet auteur en 1935, puis en 1938, apportent une confirmation aux résultats précédents.

Kindt [15] en 1934, a également utilisé cette technique à l'invertine pour la recherche du saccharose dans les solutions aqueuses.

— Par contre certains auteurs, comme Mach [16] en 1877 et Deleanos [17] en 1912 mettent en doute l'existence de saccharose dans les feuilles de vigne.

— A la suite de tous ces travaux, il est permis de penser que le saccharose est un constituant normal des feuilles de vigne et même comme l'admet Venezia qu'il aurait une origine photosynthétique.

Pour appuyer cette hypothèse, il faut citer les travaux de Brown et Morris [18] en 1893 qui, les premiers, ont émis cette hypothèse, Went [19] en 1898, Parkin [20] en 1911, Marcacei [21] en 1895, Beguin [22] en 1936.

Récemment, par l'utilisation des éléments marqués ^{32}P, la chromatographie sur papier a permis un magnifique travail sur les premières étapes de l'assimilation chlorophyllienne, le saccharose étant sans doute, le premier sucre libre formé, après l'acide phosphoglycérique et les hexosesphosphates. Ainsi en témoignent les travaux de Calvin [23] puis de Calvin et Benson [24] en 1948, ceux de Calvin et Bassham [25] en 1949, et encore plus récemment ceux de Benson, Bassham, Calvin, Goodale, Haas et Stepka [26] en 1950. L'analyse autoradiographique et radiochromatographique a montré que le saccharose formé était hydrolysé ; au cours de cette hydrolyse la synthèse des substances de structure du type fructose précéderait celle des glucoses phosphates.

Le saccharose dans les raisins.

L'existence de saccharose dans les raisins est beaucoup plus discutée. Malgré les expériences de Müller-Thurgau [27], qui ont montré que la totalité du sucre des raisins mûrs provient des feuilles, le saccharose ne semblait pas se trouver dans ceux-ci ou tout au moins d'une façon constante.

Buignet [28] le premier, en 1861, étudia la matière sucrée des fruits ; il dit notamment : « Il est visible que le sucre contenu dans le raisin est du sucre interverti » et il ajoute : « Il est permis de supposer que le sucre qui existe dans le raisin a été originairement du sucre de canne ». D'après cet auteur, ce sucre de canne se change peu à peu en sucre interverti ; la cause qui préside à cette transformation n'est pas l'acidité des fruits. L'expérience

montre que les acides organiques en raison de leur proportion relative, de leur état de dilution, de la faible température à laquelle ils agissent, n'ont qu'une légère action pour intervertir le sucre de canne en présence duquel ils se trouvent. Pour appuyer cette idée, Buignet montre que le citron dont l'acidité est excessive offre plus du quart de sa « matière sucrée à l'état de sucre de canne », tandis que la figue qui est à peine acide présente la totalité de la sienne à l'état de sucre interverti.

Kayser [4] en 1885 a trouvé, comme nous l'avons vu, du saccharose dans les feuilles, mais il n'en trouve pas dans les raisins par les mêmes méthodes.

Mach [16] en 1877, Thudichum [30], Babo [29], Windisch [31] en 1896, Borgmann et Fresenius [32], en 1898, Semichon [33] et Laborde [34] en 1905 et 1907, nient l'existence du saccharose dans les raisins.

De nombreux autres auteurs ne mentionnent pas le saccharose comme un constituant du raisin, visiblement parce qu'ils sont persuadés de son absence.

— Ce sont A. Girard et Lindet [35] en 1898, qui, les premiers, pensent avoir trouvé dans les raisins du saccharose. Ces auteurs étudient la pulpe de raisins d'*Aramon* provenant de l'*Hérault* du 13 juillet au 9 septembre. Ils déclarent : « Nous avons rencontré quelquefois, surtout dans la pulpe de raisins verts, à côté du sucre réducteur et sans que nous puissions affirmer l'existence du saccharose, une petite quantité de sucre susceptible d'inversion. »

Martinand [8] en 1907 trouve du saccharose dans l'hybride « *Petit Bouschet* » à certaines périodes de la maturation. Dans des raisins prélevés le 29 juillet 1901 il en trouve 2,2 g p. 1000. Le 3 août, il en trouve 9 g p. 1000, puis le 16 août, il n'en trouve plus, pour en retrouver vers le 20 août de petites quantités qu'il évalue à 0,2 g p. 1000.

Gore [36] étudiant une variété de *Vitis rotundifolia* en 1909 trouve dans les raisins des taux de saccharose allant de 0,7 g p. 1000 à 19 g. p. 1000.

L'année suivante Alwood [37] examine le taux en saccharose de certains raisins américains ; il constate sa présence en petites

quantités chez certains (0,4 à 4 g p. 1000), en grandes quantités chez d'autres (jusqu'à 100 g p. 1000).

Copeman [65] semble établir la présence de ce sucre chez des raisins mûrs d'Afrique du Sud à un taux important (15 à 20 g p. 1000). Mais les méthodes utilisées, qui consistaient à déterminer le saccharose par différence entre deux dosages de sucres réducteurs avant et après hydrolyse acide, ne permettent pas de conclusions certaines.

Venezia [11] en 1934, qui utilise la méthode d'hydrolyse à l'invertine dont il s'est servi pour les feuilles, montre en expérimentant sur quelques variétés de raisins italiens, que celles-ci contiennent du saccharose à des taux variables : 16,46 g p. 1000 à 39,27 g p. 1000 de jus de raisins mûrs.

Le saccharose dans les autres organes.

Les organes de la vigne autres que les feuilles et les raisins, ont été beaucoup moins étudiés ; ils présentent d'ailleurs un intérêt moindre. Il faut cependant citer :

Les travaux de Martinand [8] qui trouve 3,6 g p. 1000 de saccharose dans les racines.

Les travaux de Barbera [10] qui montrent son existence dans les bourgeons.

Les travaux de Venezia [11] qui toujours par les mêmes méthodes trouve du saccharose dans tous les organes : bourgeons (0,636 g p. 1000) pétioles (3,39 g p. 1000 à 0,9 g p. 1000), les sarments (5,79 à 14,4 g p. 1000), rafles (4,23 g p. 1000), les marcs de raisin (5,16 à 19,78 g p. 1000).

. . .

Devant la discordance de ces travaux, une étude systématique portant sur l'existence du saccharose dans la vigne, et surtout dans les raisins, nous parut intéressante.

Pour éviter toutes critiques, et lever définitivement le doute sur cette question, il nous fallait tout d'abord avoir en mains une technique de recherche et éventuellement de dosage, sûre, sensible et spécifique.

Nous allons tout d'abord exposer cette technique. Elle comporte deux temps essentiels :

— La préparation, à partir des divers organes de la vigne, de solutions propres à l'identification du saccharose.

— L'identification et le dosage approximatif du saccharose.

Pour la commodité de l'exposé, nous envisagerons en premier lieu le second temps de cette méthode. Puis ce sera le tour du premier temps.

Enfin, nous verrons l'utilisation de cette technique pour l'étude de la distribution du saccharose dans la vigne.

Technique d'identification et de dosage approximatif du saccharose dans des solutions contenant : glucose, levulose, saccharose.

Les techniques utilisées couramment pour la recherche et le dosage du saccharose dans des solutions de ce sucre et de sucres réducteurs sont basées sur son pouvoir rotatoire et sur sa propriété de donner par hydrolyse des sucres réducteurs. Elles consistent à doser les sucres réducteurs, par les méthodes classiques, avant et après hydrolyse. Lorsque l'on est sûr que la solution ne contient qu'une seule substance capable de donner par hydrolyse des sucres réducteurs, on peut caractériser la substance par son indice de réduction enzymolytique, qui est le nombre de milligrammes de glucose libérés par la substance pour un degré de retour vers la droite du pouvoir rotatoire de la solution. Le dosage de cette substance est alors possible par la détermination de la quantité de sucres réducteurs apparus au cours de l'hydrolyse en tenant compte d'un coefficient qui dépend de la nature de cette substance.

Les méthodes polarimétriques ne sont pas sensibles ; elles ne donnent de bons résultats qu'avec des solutions suffisamment riches en sucres.

Venezia, par l'usage de l'invertine comme agent hydrolysant augmente la spécificité et la sensibilité des méthodes d'études, puisqu'il n'utilise que les techniques chimiques qui permettent de doser les sucres réducteurs avant et après hydrolyse. Les sucres réducteurs apparus au cours de l'hydrolyse proviennent sûrement du saccharose, l'agent d'hydrolyse étant spécifique de ce

sucre. Mais ces méthodes chimiques, dans le cas de solutions très riches en sucres réducteurs, ne permettent pas d'apprécier avec certitude des quantités de saccharose inférieures à 1 g p. 1000, ou 2 g p. 1000.

Nous avons voulu utiliser une méthode, tout aussi sûre et spécifique mais beaucoup plus sensible, Nous avons fait appel pour cela aux méthodes récentes de chromatographie de partage sur papier.

PRINCIPE.

Le principe de la chromatographie de partage sur papier est actuellement bien connu : nous n'y reviendrons pas.

SOLVANTS UTILISÉS.

Les solvants ont été indiqués par PARTRIDGE [38].

Notre choix s'est porté sur les deux solvants suivants :

Solvant I
- Butanol : 50 p. 100
- Ammoniaque : 5 p. 100
- Eau distillée : 45 p. 100

Solvant II
- Phénol 50 p. 100
- Solution aqueuse d'ammoniaque à 1 p. 100 50 p. 100
- Traces de H C N

R. F. DES SUCRES.

Ils ont pour la plupart été signalés par PARTRIDGE ; il utilisait du papier Wattmann n° 1 ; il trouvait les valeurs que nous indiquons dans le tableau I.

TABLEAU I

Rf des sucres avec le papier Wattman n° 1 (Partridge)

	SOLVANT I	SOLVANT II
d. glucose	0, 07	0, 39
d. fructuose	0, 10	0, 51
saccharose	—	0, 39

TABLEAU II

Rf des sucres avec le papier Durieux n° 122.

	SOLVANT I	SOLVANT II
d. glucose	0, 07	0, 30
d. fructuose	0, 10	0, 51
saccharose	0, 02	0, 39

Nous avons déterminé ces R. f. pour le papier filtre Durieux N° 122 à filtration lente, que nous avons utilisé pendant tout notre travail.

Nous avons trouvé les valeurs indiquées dans le Tableau II.

Révélateurs.

Il existe différents réactifs colorés permettant de révéler les spots des sucres. Nous avons choisi les deux suivants :

— Le Réactif au naphtorésorcinol, indiqué par Partridge [38] qui révèle en rouge le lévolose et le saccharose.

Il est obtenu en mélangeant à parties égales les deux solutions suivantes :

Solution à 2 p. 1000 de naphtorésorcinol dans l'alcool à 95 c.

Solution à 2 p. 1000 d'acide trichloracétique dans l'eau.

— Le réactif à l'oxalate d'aniline, indiqué par Horrocks [39], qui révèle en brun le glucose.

Acide oxalique : 50 ml. d'une solution aqueuse à 25,2 g p. 1000

Aniline : 0,93 g en solution dans 50 ml d'alcool à 95 c.

Mode opératoire.

On utilise des feuilles de papier de 26 cm. de large sur 26 cm. de haut. A 5 cm. de la base, on trace un trait parallèle à celle-ci. Sur cette droite on marque des points à partir de 2 cm. du bord et ensuite tous les 3 cm. C'est sur ces points que nous déposerons de petites gouttes de la solution à étudier, à l'aide de micropipettes calibrées. Si la solution est suffisamment dilués, nous déposerons plusieurs gouttes en attendant chaque fois que la goutte précédente soit complètement sèche ; cette dessiccation est rapide si on opère sur une platine chauffante que l'on recouvre d'une plaque de porcelaine pour ne pas salir le chromatogramme.

On procède à une chromatographie descendante de 48 heures, ou une chromatographie ascendante de 24 heures.

On fait quatre chromatogrammes :

deux avec le Solvant I

deux avec le Solvant II

Deux chromatogrammes, obtenus avec des solvants différents sont révélés par le réactif au naphtorésorcinol ; les deux autres par le réactif à l'oxalate d'aniline.

Les résultats obtenus sont indiqués dans la figure nº 1.

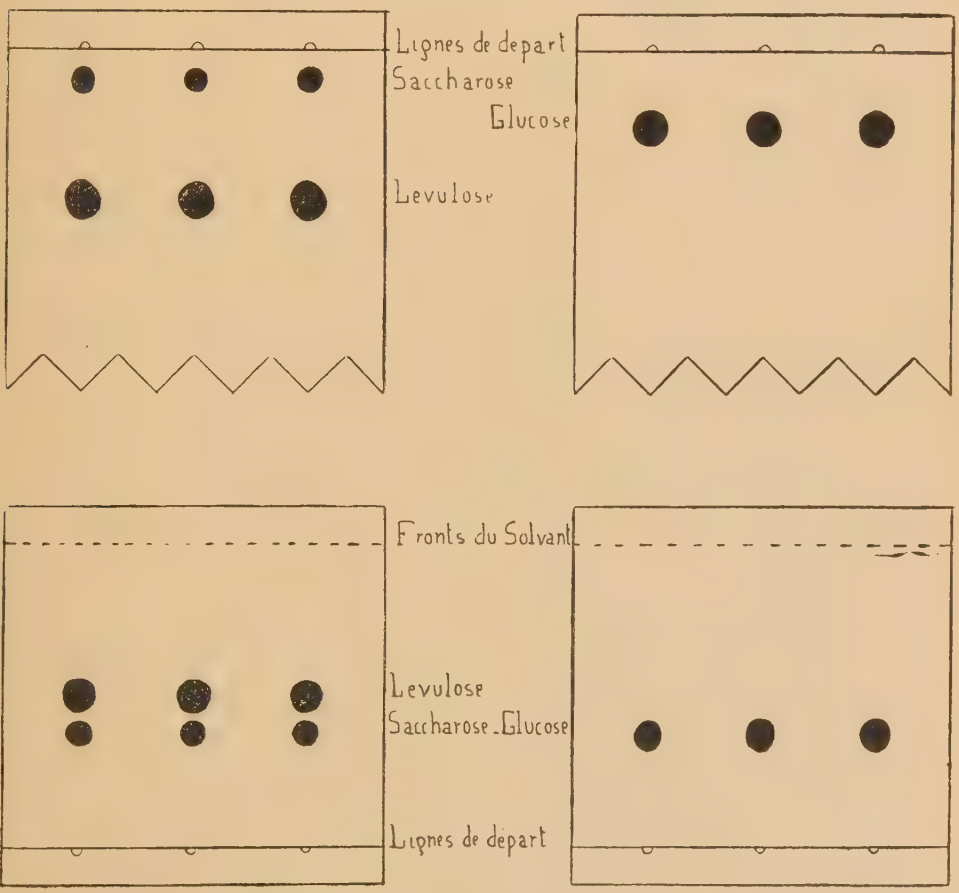

Fig. 1. — *A gauche* : chromatogrammes révélés par le réactif au naphtorésorcinol ; *à droite* : chromatogrammes révélés par le réactif à l'oxalate d'aniline ; *en haut* : chromatogrammes obtenus avec le solvant I, chromatographie descendante de 48 heures ; *en bas* : chromatogrammes obtenus avec le solvant II, chromatographie ascendante de 24 heures.

Résultats.

Les résultats obtenus sont différents suivant la concentration en saccharose de la solution utilisée. Nous envisagerons tout d'abord le cas de solutions dont la teneur en saccharose est à la limite des possibilités d'identification de cette méthode ; puis nous verrons le cas de solutions plus riches et plus pauvres en saccharose.

I. — *Solutions dont la teneur en saccharose est égale au* 1/200 *de la teneur en sucres réducteurs* (glucose et lévulose à parties égales).

Soit la solution

glucose	100 g
lévulose	100 g
saccharose	1 g
eau distillée q.s.p.	1000 ml

Nous sommes à la limite qui nous permet d'obtenir pour le saccharose une tache nette quoique très faible. Nous verrons plus loin comment on peut s'assurer que cette tache représente avec certitude du saccharose.

Pour obtenir cette tache, nous sommes obligés de déposer sur le papier un nombre de gouttes important, destiné à fournir une quantité de saccharose suffisante. Si nous augmentons ce nombre pour avoir davantage de saccharose, nous accroissons également la quantité de glucose et de lévulose dans de bien plus grandes proportions. Nous sommes donc limités par le pouvoir d'absorption du papier et sa capacité de séparation par chromatographie.

II. — *Solutions dont la teneur en saccharose est supérieure au* 1/200 *de la teneur en sucres réducteurs.*

Par la méthode indiquée, on obtient une tache nette qui correspond au saccharose. On peut déterminer approximativement le taux de la solution en saccharose. Pour cela, on dose par les méthodes chimiques les sucres réducteurs de la solution. On prépare des solutions contenant la même quantité de sucres réducteurs et des taux de saccharose variables : 1/200, 1/100, 1/50, 1/30. On dépose sur le chromatogramme en des points différents la même quantité de la solution à doser et des solutions précédentes. Après révélation, la comparaison de l'intensité et surtout

de la grosseur des taches nous donne une idée sur la teneur de la solution en saccharose.

Si la solution est trop concentrée en saccharose, on peut diminuer le pourcentage de ce dernier, par addition de quantités connues de glucose et de lévulose.

III. — *Solutions dont la teneur en saccharose est inférieure au* 1/200 *de la teneur en sucres réducteurs.*

La présence de saccharose est indécelable par la méthode précédente, de même que par les méthodes chimiques. Nous avons sensibilisé cette méthode par un enrichissement de la solution en saccharose.

Ceci nous a permis de déceler la présence de saccharose dans la solution suivante :

glucose	100 g
lévulose	100 g
saccharose	0,10 g
eau distillée	q.s.p. 10000 ml.

ce qui correspond à une concentration en saccharose égale au 1/2000 de la teneur en sucres réducteurs, soit dix fois moins que précédemment.

Cette solution enrichie en saccharose est alors soumise à une chromatographie descendante avec le solvant I, ou à une chromatographie ascendante avec le solvant II. Après révélation nous obtenons une tache très nette de saccharose.

Cet enrichissement sera utilisé chaque fois que la caractérisation du saccharose par chromatographie de la solution initiale sera négative ; elle nous permettra de déceler ce sucre à des concentrations variant de 1/200 à 1/2000, sans qu'il soit toutefois possible d'évaluer cette concentration avec précision. On pourra seulement apprécier si elle se trouve au voisinage de 1/200 ou de 1/2000 ou entre les deux, vers 1/1000,

ENRICHISSEMENT EN SACCHAROSE DE PETITES QUANTITÉS DE SOLUTIONS SUCRÉES

On l'effectue par chromatographie ascendante de partage sur papier.

PRINCIPE.

Il consiste à séparer une quantité appréciable de saccharose de la majeure partie du glucose et du lévulose qui l'accompagnent. Pour cela on utilise la propriété du saccharose d'avoir un Rf inférieur à ceux du glucose et du lévulose avec le solvant I. Le saccharose est alors remis en solution ainsi qu'une petite quantité de lévulose et de glucose.

MODE OPÉRATOIRE.

Dans cet exposé nous distinguerons :

— un essai préliminaire ;

— la technique d'enrichissement proprement dite.

1° *Essai préliminaire*

Il consiste à déterminer le nombre optimum de gouttes de la solution, qui permet la mise en jeu de la quantité maximum de saccharose compatible avec une séparation suffisante de ce sucre du mélange glucose-lévulose.

Sur le chromatogramme nous déposerons en des points différents un nombre de gouttes croissant. Nous faisons ainsi deux chromatogrammes. Nous faisons cheminer le solvant I en chromatographie ascendante de 24 heures. Nous révélons un chromatogramme avec le naphtorésorcinol, l'autre avec le réactif à l'oxalate d'aniline. Nous avons une idée de l'intensité du chevauchement des sucres après cette chromatographie. Nous pouvons ainsi déterminer la quantité de solution optima à déposer sur le papier pour avoir une séparation adéquate.

2° *Technique d'enrichissement*

On prépare 5 feuilles de papier de 26 cm. de large sur 24 cm. de haut. On trace trois traits parallèles à la base, à des hauteurs respectives de 19 mm., 22 mm. et 26 mm. On trace deux petits segments verticaux entre les hauteurs 19 mm. et 26 mm., à des distances de 3 cm. des bords latéraux ; on trace un petit segment identique au milieu de la feuille. On imbibe le petit rectangle, délimité par les parallèles à la base 19 et 22 et les segments verticaux latéraux, de la solution sucrée. On opère ainsi un nombre de fois correspondant au nombre de gouttes optima déterminé précédemment. On fait avec ces feuilles une chromatographie ascendante de 24 heures avec le solvant I.

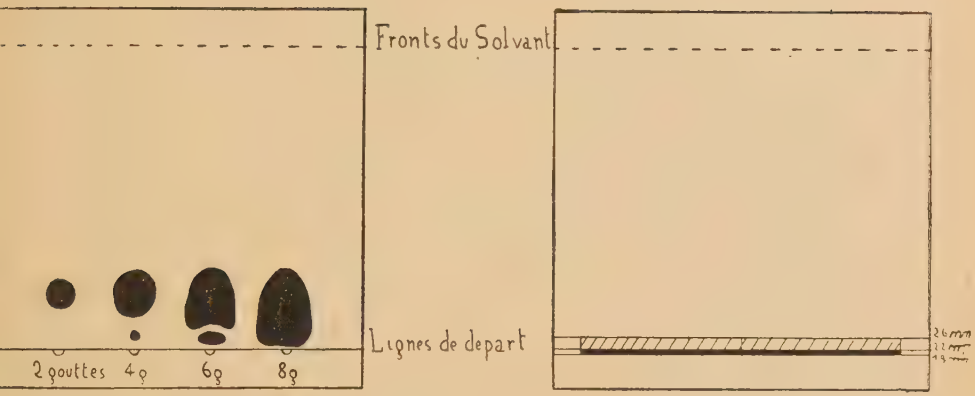

Fig. 2. — *A gauche* : *essai préliminaire* : chromatographie ascendante de 24 heures. Révélation du saccharose et du lévulose par le réactif au naphtorésorcinol ; *A droite* : *chromatogramme pour enrichissement* : Aire de dispersion du saccharose après une chromatographie ascendante de 24 heures avec le solvant I.

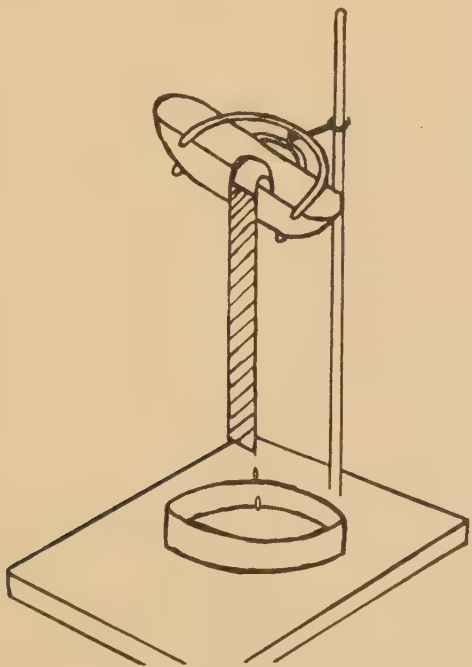

Fig. 3. — Schéma de l'élution des rectangles de papier correspondant à l'aire de dispersion du saccharose.

On découpe le papier suivant les parallèles à la base de hauteurs 19 mm. et 26 mm. ; le rectangle obtenu est coupé par le milieu. On rassemble tous les bouts de papier par l'extrémité non imbibée de sucre ; on procède alors à une élution par la pyridine, l'extrémité non imbibée de sucre plongeant dans un petit récipient contenant le solvant, l'extrémité imbibée de sucre pendant en dehors du récipient. Le liquide d'élution est recueilli dans une petite capsule. Il est évaporé à basse température grâce à l'action d'une lampe à rayons infra-rouges et d'un violent courant d'air fourni par un ventilateur.

Les quelques gouttes de solution concentrée obtenue sont utilisées pour faire une chromatographie descendante de 48 heures avec le solvant I et une chromatographie ascendante de 24 heures avec le solvant II.

— Les divers stades de cette technique d'enrichissement sont schématisés dans les figures n° 2 et n° 3.

IDENTIFICATION DU SACCHAROSE.

Bien que la détermination des Rf du saccharose avec deux solvants différents, représente une méthode sûre d'identification, nous avons voulu, pour éviter tous les doutes, apporter à sa caractérisation une preuve supplémentaire.

Principe.

Après séparation du saccharose par chromatographie, nous l'hydrolysons in situ par un acide fort à chaud. Une nouvelle chromatographie nous permet de constater que ce sucre a donné du lévulose et du glucose.

Mode opératoire.

Sur une feuille de 26 cm. sur 26 cm. on trace un trait parallèle au côté *a*, à 5 cm. de ce côté, et un trait parallèle au côté *b*, à 4 cm. de ce côté. On dépose sur la ligne parallèle au côté *a* la solution sucrée, en deux points situés à 2 et 6 cm. du côté *b* de la feuille.

On prépare ainsi deux chromatogrammes.

On fait une chromatographie descendante de 48 heures avec le solvant I, dans le sens 1. On découpe, après séchage, la feuille suivant le trait parallèle du côté *b*.

On révèle le plus petit rectangle ; ceci permet de localiser le saccharose sur l'autre morceau de papier, le cheminement étant le même. La feuille est placée sur une platine chauffante ; on dépose dix gouttes de solution aqueuse à 10 p. 100 d'acide trichloracétique à la position présumée du saccharose, en laissant évaporer entre chaque goutte. Le saccharose est ainsi en partie hydrolysé.

On fait alors une nouvelle chromatographie ascendante de 24 heures dans le sens 2 avec le solvant I. Un des chromatogram-

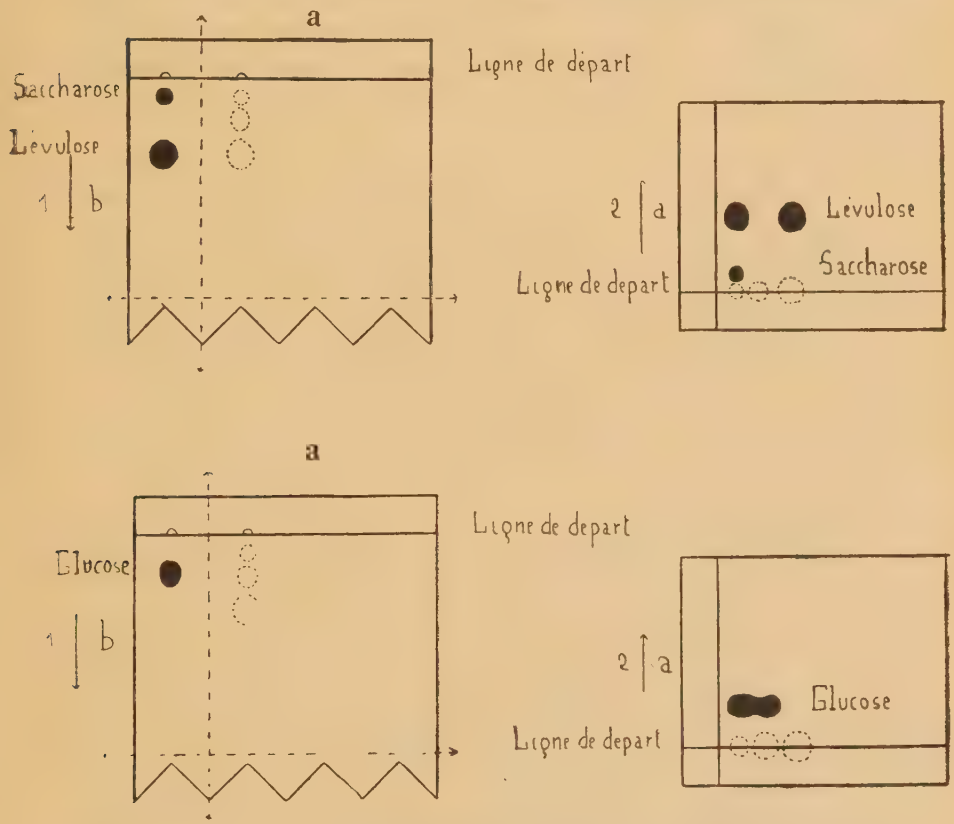

Fig. 4. — *En haut* : chromatogrammes révélés par le réactif au naphtorésorcinol ; *en bas* : chromatogrammes révélés par le réactif à l'oxalate d'aniline ; *à gauche* : chromatogrammes obtenus avec le solvant I, chromatographie descendante de 48 heures ; *à droite* : chromatogrammes obtenus avec le solvant I, chromatographie ascendante de 24 heures.
Les taches pleines représentent des taches obtenues par révélation.
Les taches en pointillé représentent la position présumée des sucres qui n'ont pas été révélés.

mes est révélé avec le réactif à l'oxalate d'aniline ; on obtient une grosse tache brune, qui possède le Rf du glucose dans le prolongement des segments s s' et g g' ; s et s' correspondent aux positions du saccharose à la suite de la première chromatographie ; g et g' à celle du glucose. Cette tache provient donc de g' et d'une partie de s', qui après hydrolyse a donné du glucose. L'autre chromatogramme est révélé avec le réactif au naphtorésorcinol. On obtient une tache, possédant le Rf du saccharose, d'intensité assez faible dans le prolongement du segment s s' ; on obtient deux taches, qui possèdent le R f du lévulose dans le prolongement des segments s s' et l l' ; l et l' correspondent aux positions du lévulose à la suite de la première chromatographie.

Résultat.

La substance qui par une première chromatographie possède le R f du saccharose a donné, après hydrolyse acide à chaud des substances, qui par une deuxième chromatographie possèdent les R f du glucose et du lévulose.

On pourrait, mais ce nous semble superflu, opérer de même avec d'autres solvants, ou combiner l'action de plusieurs solvants.

On a identifié ainsi d'une façon certaine le saccharose.

La figure n° 4 permettra, en s'y reportant, de bien comprendre la marche que nous suivons.

Obtention de solutions propres à la chromatographie à partir des différents organes de la vigne.

Dans la vigne, le saccharose, s'il existe, se trouve en solution dans les vacuoles des cellules. Or dans les cellules existe de l'invertine, comme l'ont montré certains auteurs. Le problème est d'éviter l'action de l'invertine sur le saccharose, qui peut exister.

On opère différemment dans les premiers temps de la méthode suivant que l'on part de baies de raisins mûrs ou des autres organes de la vigne, verts ou ligneux.

Nous envisagerons d'abord le cas de ces organes verts ou ligneux jusqu'à ce que nous obtenions une solution dont le traitement sera identique à celui d'un jus de raisin. Nous verrons alors le traitement de ce jus de raisins.

ORGANES VERTS OU LIGNEUX.

Ce sont les feuilles, les pétioles, les tiges, les racines, les raisins verts.

Principe.

Pour mettre l'invertine dans l'impossibilité d'agir, nous soumettons aussitôt après la cueillette les organes à une stabilisation par la méthode de Bourquelot [**40**]. Pour extraire ensuite les sucres, les organes finement coupés sont mis à macérer dans l'eau ; les cellules éclatent, les sucres passent en solution.

Nous sommes alors ramené au cas d'un jus de raisins dont nous verrons le traitement plus loin.

Mode opératoire.

20 grammes d'organes sont traités pendant une heure par 100 ml d'alcool à 95 c bouillant à reflux, en présence de carbonate de calcium destiné à neutraliser les acides de la plante ; ces acides pourraient à chaud hydrolyser le saccharose. On décante. Les organes sont finement pulpés au mixeur « Turmix » et mis à macérer pendant une heure dans 100 ml d'eau distillée à la température ambiante. On décante. Les solutions aqueuses et alcooliques sont mélangées. On distille l'alcool sous pression réduite à une température de 50°.

Quand 130 ml de liquide sont passés à la distillation, on recueille le liquide restant dans le ballon.

C'est sur lui que porte la suite des opérations.

RAISINS MURS

Les sucres sont localisés dans les cellules de la pulpe.

Ces cellules sont volumineuses ; chacune est presque essentiellement constituée par une vacuole remplie de suc cellulaire dans lequel les sucres sont en solution. Il résulte de cette constitution qu'une simple expression permettra de recueillir ce suc cellulaire plus ou moins pur. Il faut le purifier et éliminer toutes les substances inutiles et nuisibles comme l'invertine, avant qu'elles aient le temps d'agir.

Notre but est d'obtenir, à partir de ce jus, une solution pure des sucres susceptibles d'exister dans ce jus ; une telle solution

sera utilisable pour faire la chromatographie de partage sur papier.

Principe de la purification.

Le jus de raisins obtenu par expression des baies, est traité immédiatement après son extraction par le sous acétate de plomb liquide. L'excès de plomb est éliminé par l'action successive d'une solution saturée de sulfate de sodium et d'un courant de gaz carbonique. Une fraction de la solution obtenue est évaporée sous vide à consistance sirupeuse.

Le résidu est desséché par du sulfate de sodium anhydre. Cette poudre est reprise par la pyridine exempte d'eau, qui dissoud les sucres exclusivement. Cette solution pyridinée filtrée et concentrés est utilisable pour la chromatographie.

Mode opératoire.

On presse dans un carré de gaze un nombre de baies suffisant pour obtenir 50 ml de jus. On lui ajoute aussitôt 10 ml d'extrait de Saturne. On mélange. On centrifuge. On recueille le liquide surnageant. Le précipité est remis en suspension dans 25 ml d'eau distillée. On centrifuge. On recueille le liquide surnageant. On opère de même une seconde fois. On mélange les trois liquides ainsi obtenus.

On ajoute à cette solution 10 ml d'une solution saturée de sulfate de sodium. On mélange. On fait passer dans le mélange un courant de gaz carbonique pendant 5 minutes. On laisse reposer quelques heures (une nuit dans nos expériences). On filtre. On lave bien le récipient ; les eaux de lavage sont filtrées sur le même filtre ; le filtre est à son tour lavé avec de l'eau distillée.

La solution obtenue est évaporée sous vide à une température de 50° jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu sirupeux est traité au mortier avec du sulfate de sodium anhydre et du carbonate de calcium en quantités suffisantes pour obtenir une poudre bien divisée.

On laisse cette poudre 6 heures dans une atmosphère bien sèche (étuve à 30 ou 40°).

Au bout de ce temps la poudre est triturée dans un mortier avec 25 ml de pyridine bien sèche, pendant 20 minutes. On filtre

sur papier. On lave le filtre avec de la pyridine. La solution pyridinée est concentrée à 2 ml environ à basse température grâce à l'emploi d'une lampe à rayons infra-rouges et d'un violent courant d'air produit par un ventilateur.

Le résidu est utilisé pour la chromatographie.

Discussion de cette technique.

Pour bien comprendre la suite des opérations que nous venons d'indiquer, voyons brièvement, d'une façon générale, la composition du jus de raisins, et voyons l'action des diverses opérations sur la composition de ce jus.

— *Composition du jus de raisin.* Elle est beaucoup mieux connue depuis les travaux de Peynaud [**44**].

Le jus de raisin est, pour la plus grande partie, composé de :

Substances minérales à l'état de sels ;

Acides organiques libres ou salifiés ;

Oses et peut-être de dioside comme le saccharose.

Ces substances sont dans le jus à l'état de solution vraie. A côté, on trouve d'autres substances à l'état de solution colloïdale.

Matières pectiques et gommes

Peptones et substances protéïques.

On trouve d'autres substances en quantités faibles. Elles n'ont donc que peu d'importance, excepté les diastases qui, comme l'invertine, peuvent avoir une action néfaste ; ces diastases sont en solution colloïdale.

— *Défécation au plomb.*

Au cours de la défécation au sous acétate de plomb liquide on précipite : les matières pectiques, les gommes, les peptones, les substances protéïques, les diastases ; les substances en suspension sont entraînées par ces précipités. Les acides organiques du raisin : acide malique, acide tartrique, acide citrique, donnent des sels de plomb insolubles qui précipitent ; la majeure partie des anions minéraux précipitent sous forme de sel de plomb : sulfate, chlorure.

Après défécation, nous obtenons une solution renfermant : acétate de plomb, oxyde de plomb, acétates des divers cations du jus de raisin (surtout le potassium), sucres du jus de raisin.

— *Elimination du plomb en excès.*

Lors de l'addition de la solution saturée de sulfate de soude, on élimine seulement la fraction de plomb, représenté par l'acétate de ce métal ; pour éliminer les oxydes de plomb nous avons recours au gaz carbonique, qui donne des carbonates de plomb insolubles.

Après filtration la nouvelle solution contient : Acétate de soude, acétate de potasse, sulfate de soude, des sucres.

— *Déionisation des solutions pour usage chromatographique.*

Partridge [38] a montré que la présence d'ions dans la solution était gênante pour leur étude par chromatographie. Ceux-ci sont la cause de phénomènes d'interférence, qui gênent la séparation des sucres. Cet auteur utilise pour la déionisation des échangeurs d'ions.

Ultérieurement Malpress et Morrison [41] ont montré que les sels des acides inorganiques étaient insolubles dans la pyridine ; on peut donc utiliser cette propriété pour leur élimination ; les sucres passent par contre en solution.

Nous avons étudié la solubilité dans la pyridine de certains sels d'acides organiques : acétate de sodium, acétate de potassium, acétate de plomb. Nous avons montré l'insolubilité totale des acétates de sodium et de potassium, et la solubilité de l'acétate de plomb qui donne dans la pyridine un louche colloïdal traversant les filtres ordinaires.

Ceci justifie l'emploi de la pyridine pour déioniser la solution précédente, et montre l'importance d'une élimination complète du plomb.

Malpress et Morrison recommandent l'emploi de pyridine sèche et redistillée. La pyridine dénommée pure que nous ont fournie les établissement *Prolabo* nous a donné entière satisfaction.

Malpress et Morrison préconisent l'évaporation sous pression réduite de la solution pyridinée de sucre à température inférieure à 40° C, la dissolution du résidu dans l'eau et la concentration de cette solution aqueuse pour son emploi en chromatographie.

Nous avons constaté qu'il est important d'éviter l'action des températures élevées sur les solutions de sucre dans la pyridine. Celles-ci, en effet, sont facilement altérées à température élevée.

Par contre, à basse température, l'action de la pyridine n'est pas sensible, du moins rapidement ; nous avons donc utilisé directement la solution de sucre dans la pyridine après concentration et les avons conservées intactes pendant plusieurs jours. Les chromatogrammes, obtenus à partir de ces solutions au bout d'une semaine, nous ont donné les mêmes résultats qu'avec des solutions récentes.

L'usage de la pyridine pour la déionisation des solutions destinées à la chromatographie nous a toujours donné d'excellents résultats. Cette méthode est au moins aussi bonne que l'emploi des échangeurs d'ions. Elle a le gros avantage d'être beaucoup plus rapide, moins coûteuse et d'un emploi simple et facile.

La distribution du saccharose dans la vigne.

Après avoir mis au point une technique de recherche et éventuellement de dosage du saccharose, sûre, sensible et spécifique, nous nous sommes livrés à une étude systématique et détaillée sur l'existence et la distribution de ce sucre dans les divers organes de la vigne et en particulier dans les baies de raisin. Il existe en effet une pratique assez courante en vinification, qui consiste à ajouter du saccharose ou sucre ordinaire à la vendange ; c'est la chaptalisation. Ce sucre est hydrolysé rapidement par l'invertine en glucose et lévulose ; c'est ce qu'ont montré les travaux de L. Mathieu [**42**] et de Fallot [**43**]. On augmente ainsi la quantité de sucres fermentescibles ; le degré alcoolique du vin obtenu après fermentation en sera d'autant plus élevé. Cette chaptalisation est autorisée en France et en particulier en Gironde dans certaines années. Quand la maturation ne s'est pas faite convenablement, par suite de circonstances atmosphériques défavorables, l'addition de saccharose est permise dans des limites précises, et de toutes façons le viticulteur qui chaptalise sa vendange doit en faire la déclaration.

Or, il arrive que des viticulteurs ajoutent frauduleusement à la vendange du saccharose, lorsque la chaptalisation n'est pas permise, ou même lorsqu'elle est permise dans des conditions qui ne sont pas admises par la loi.

Il importe donc de savoir si le raisin contient du saccharose et, s'il en contient, dans quelles proportions.

Pour mener à bien ce travail, nous avons entrepris une étude rationnelle de la nature et du taux des sucres dans les divers organes de la vigne. Pour bien saisir notre plan de travail, il nous faut esquisser très brièvement le métabolisme des glucides dans la plante.

APERÇU SUR LE MÉTABOLISME DES GLUCIDES.

Les glucides prennent naissance par photosynthèse dans les organes verts, surtout dans la feuille. Ils peuvent exister sous forme d'oses simples ou de polyosides condensés. Une partie est brûlée par respiration ; le reste est envoyé dans les autres organes.

Après le débourrement et jusqu'à la vendange, c'est vers le grain que migrent les glucides ; cette migration ne peut s'effectuer que sous forme de petites molécules. Les grains accumulent ces glucides, surtout après la véraison.

Après la vendange, et jusqu'à la chute des feuilles, c'est vers les organes de réserve qui se dirigent et que s'accumulent ces sucres. Les organes sont les racines et les tiges. Ils s'y condensent plus ou moins. Ils seront utilisés l'année suivante au moment du débourrement ; ils serviront de substances alimentaires en attendant que les feuilles soient suffisamment développées pour subvenir aux besoins de la plante.

Nous étudierons donc successivemcet :

1° *Les organes de synthèse* des glucides : *les feuilles*
— avant la vendange
— après la vendange

2° *Les organes de transmission* : en particulier *les pétioles* qui sont presque exclusivement formés de faisceaux libéro-ligneux ; ils représentent donc les organes de transmission typiques.

Nous les étudierons :
— avant la vendange
— après la vendange

3° *Les organes d'accumulation* qui sont représentés par :
— avant la vendange : *la baie* du raisin
— après la vendange : *les racines* et *les tiges.*

GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTHODES EMPLOYÉES.

1° *Dosages des sucres réducteurs.*

Tous ont été faits par la méthode classique et rigoureuse de Gabriel Bertrand.

Pour les feuilles, les pétioles, les racines et les tiges, nous avons opéré sur 10 ml de la solution obtenue après défécation et élimination du plomb en excès.

Pour les raisins mûrs, nous avons opéré sur 5 ml d'une dilution eu 1/10 de la même solution.

Nous effectuons deux séries de dosages :

a) Directement sur cette solution comme on vient de l'indiquer.

b) Après hydrolyse des substances hydrolysables d'une fraction de la même solution.

2° *Hydrolyse des substances hydrolysables.*

Pour les feuilles, pétioles, racines et tiges, nous avons constaté qu'il faut ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique pur pour 10 ml de la solution sur laquelle s'effectue le dosage. Le pH obtenu est alors voisin de 1, ce qu'il faut pour avoir en une demi-heure une hydrolyse complète du saccharose à une température de 100°. Nous avons en effet constaté que la solution possédait un pouvoir tampon non négligeable en suivant la variation de son pH électrométriquement au cours de l'addition de l'acide chlorhydrique.

Pour les raisins : 0,2 ml d'acide chlorhydrique suffisent pour les 5 ml de la dilution au 1/10 de la solution utilisée.

3° *Détermination du saccharose.*

Par la détermination du taux de sucres réducteurs qui apparaissent par hydrolyse acide, on peut connaître le taux en saccharose des divers organes étudiés, si l'on suppose que c'est la seule substance existante capable de donner par hydrolyse acide des sucres réducteurs.

La méthode chromatographique indiquée permet de vérifier s'il s'agit bien de saccharose et s'il semble approximativement qu'il ne s'agit que de saccharose.

Quand la méthode chimique donnera un résultat négatif sur la présence du saccharose, ou lorsque nous trouverons des valeurs qui seront dans les limites des erreurs d'expérience possibles,

la méthode chromatographique nous permettra encore de lever le doute ; même quand les méthodes chimiques sont impuissantes, la chromatographie nous permet de déceler la présence du saccharose.

Nous indiquerons donc les résultats trouvés par les méthodes chimiques et les méthodes chromatographiques.

4° *Détermination du pH.*

Nous avons déterminé le pH de tous les jus de raisin étudiés, à une approximation de 0,1 près avec un pH mètre électrique. Par suite de la méthode employée, cette détermination a donc été précise et rigoureuse.

Le saccharose dans les feuilles de vigne.

Nous étudierons d'abord des feuilles de vigne récoltées avant les vendanges, en plein été, alors que l'activité photosynthétique est maximum ; puis nous verrons quelques exemples de feuilles récoltées après la vendange, alors qu'elles étaient plus ou moins jaunies.

AVANT LES VENDANGES.

Notre étude a porté sur des feuilles saines, bien développées, recueillies après des temps d'exposition à la lumière solaire différents et stabilisées peu de temps après.

Discussion des résultats.

Le tableau n° III montre que le saccharose est le sucre le plus important des feuilles de vignes. *Sa proportion est d'autant plus élevée que le temps d'exposition au soleil est plus important* et par suite que la photosynthèse a été plus active. Le taux des sucres réducteurs est à peu près constant. En effet, le matin, le taux de saccharose représente moins des 2/3 des sucres totaux. Vers le milieu du jour, il représente un peu plus des 2/3 des sucres totaux. Le soir, par contre, il représente en moyenne les 3/4 des sucres totaux.

Résultats chromatographiques.

Ils confirment dans tous les cas que la substance capable de

TABLEAU III

Saccharose dans les feuilles de vigne à differentes heures du jour.

Date	Heures du jour	Cépages	Provenance	Sucres reducteurs en sucre interverti g. p. 1000	Saccharose par méthodes chimiques g. p. 1000
1952					
20 août	9 h.	Chasselas blanc	La Tresne	5,85	9,3
—	13 h.	Muscat de Hambourg	—	5,7	11,25
—	—	Hybrides rouges 46-43	—	7	15,1
—	20 h.	Malbec	—	3,47	15,3
—	—	Muscat	—	4,5	15,6
—	—	Cabernet	—	6,4	16,2
—	—	Merlot	—	5,07	18
—	—	Semillon	—	5,7	18,3
—	—	Sauvignon	—	6	18

donner par hydrolyse des sucres réducteurs est bien du saccharose, tout au moins en majeure partie. On ne décèle que l'existence de trois sucres : le d. glucose, le d. fructose et le saccharose.

APRES LES VENDANGES.

Notre étude a porté sur des feuilles en partie jaunies, recueillies au milieu du jour et stabilisées peu après.

Nous avons déterminé le taux de sucres réducteurs, le taux de saccharose par les méthodes chimiques ; nous avons vérifié par chromatographie s'il s'agissait bien de saccharose.

Les résultats sont exposés dans le tableau IV.

Tableau IV

Saccharose dans les feuilles de vigne jaunies.

Cépages	Provenance	Sucres réducteurs en sucre interverti g. p. 1000	Saccharose par les méthodes chimiques g. p. 1000	Date
				1952
Cabernet	La Tresne	8,25	6	10 octobre
Hybrides rouges 46-43	—	6,08	2,4	—

Discussion des résultats.

Le tableau n° IV confirme que le taux de saccharose est d'autant plus important que la photosynthèse est plus active.

Dans les feuilles jaunies, où la photosynthèse est peu active, les sucres réducteurs deviennent les plus importants. Le saccharose, cependant, se trouve encore à un taux important.

Résultats chromatographiques.

Ils confirment, comme précédemment, les résultats de l'analyse chimique.

Le saccharose dans les pétioles de la vigne.

Comme nous l'avons fait pour les feuilles, nous considérereons successivement des pétioles prélevés avant les vendanges et après les vendanges.

AVANT LES VENDANGES.

Notre étude a porté sur les pétioles de certaines feuilles rapidement stabilisés. Nous avons choisi les pétioles des feuilles que nous venons d'étudier pour pouvoir comparer les résultats trouvés.

TABLEAU V

Saccharose dans les petioles de vigne avant les vendanges.

Date	Heures du jour	Cépages	Provenance	Sucres réducteurs en sucre interverti g. p. 1000	Saccharose par méthodes chimiques g. p. 1000
1952					
20 août	20 h.	Malbec	La Tresne	3,6	1,05
—	—	Muscat	—	3,45	2,7
—	—	Cabernet	—	2,4	1,95
—	—	Merlot	—	4,65	3,75
—	—	Semillon	—	3,4	3,7
—	—	Sauvignon	—	3,3	3,6

Résultats chromatographiques.

Ils confirment dans tous les cas que la substance capable de donner par hydrolyse des sucres réducteurs est bien du saccha-

rose, tout au moins en majeure partie. On ne décèle que l'existence de trois sucres : le d. glucose, le d. fructose, le saccharose.

Discussion des résultats.

Le tableau V montre que :

— Le taux de sucres totaux des pétioles est beaucoup plus faible que celui des feuilles.

— La proportion de saccharose par rapport aux sucres totaux est beaucoup moins importante que dans les feuilles. Le saccharose ne représente ici même pas la moitié des sucres totaux. Les sucres réducteurs, glucose et lévulose, sont les sucres les plus importants des pétioles.

APRES LES VENDANGES.

Nous avons étudié les pétioles des feuilles dont nous avons fait mention.

Résultats chromatographiques.

Ils confirment les résultats de l'analyse chimique.

Discussion des résultats.

Le tableau VI montre :

De même qu'avant les vendanges, il y a dans les pétioles diminution du taux de saccharose par rapport aux feuilles correspondantes. Ici ce taux de saccharose est faible. Il représente juste un quart des sucres totaux.

TABLEAU N° VI

Saccharose dans les pétioles de vigne après les vendanges.

Cépages	Provenance	Sucres réducteurs en sucre interverti g. p.1000	Saccharose par les méthodes chimiques g. p.1000	Date
Cabernet	La Tresne	2,7	0,9	1952 10 Octobre
Hybrides rouges 46-43	"	2,6	1,7	—

Le saccharose dans les baies des raisins.

Nous avons vu en étudiant les feuilles et les pétioles que le saccharose est un sucre normal et important dans la vigne. Il n'est pas impossible à priori qu'il existe dans les baies des raisins. Malgré les nombreux travaux qui nient son existence et la présence dans la plante d'invertine, il nous paraissait normal qu'il en soit ainsi. La baie est un organe d'accumulation des sucres, qui sont synthétisés dans les feuilles. Or, les sucres des feuilles semblent en majeure partie représentés par du saccharose. Ce saccharose semble subir en chemin une hydrolyse, et déjà dans les pétioles son taux est moins important. Quand les sucres arrivent dans la baie, reste-t-il encore du saccharose, ou bien a-t-il été entièrement hydrolysé ? C'est ce que nous avons voulu élucider.

Nous avons entrepris une étude qui a porté sur de très nombreux cas, s'étendant sur deux années diverses : 1951 et 1952. Nous avons étudié des cépages différents, d'origines diverses, à des degrés de marurité variés.

Pour chaque jus de raisin, nous avons déterminé : le pH, le taux de sucres réducteurs, le taux de saccharose par les méthodes chimiques. Pour certains jus nous avons trouvé des taux de saccharose qui ne pouvaient pas être dus à une erreur d'expérience. Nous avons, comme nous l'avons fait pour les feuilles et les pétioles, vérifié par chromatographie s'il s'agissait bien de saccharose. Pour d'autres jus, nous avons trouvé des substances hydrolysables qui donnent par hydrolyse des sucres réducteurs ; les taux trouvés sont suffisamment faibles pour que l'on puisse craindre une erreur d'expérience dans le dosage chimique. Dans ce cas, nous avons vérifié par chromatographie, s'il y avait du saccharose et s'il n'y avait pas eu une erreur précédemment.

Nous avons fait appel soit à la technique chromatographique directe, soit quelquefois, et alors il y avait bien une erreur d'expérience par les méthodes chimiques, à la méthode d'enrichissement. Enfin, quelquefois, les méthodes chimiques nous faisaient croire à la présence exclusive de sucres réducteurs dans le jus de raisin. Dans ce cas, la méthode chromatographique après enrichissement nous a permis de retrouver, en petites quantités mais de façon constante, du saccharose dans le jus de raisin.

Les résultats obtenus nous ont permis de résoudre le problème de l'existence du saccharose dans le jus de raisin, mais aussi ont apporté une preuve de la sensibilité et de la spécificité de la technique que nous avons mise au point.

Remarques.

Pour pouvoir exposer et résumer nos travaux dans des tableaux, nous avons adopté pour les résultats chromatographiques différents symboles.

Les résultats obtenus par chromatographie directe seront dits : saccharose par chromatographie directe.

Les résultats obtenus par chromatographie après enrichissement seront dits : Saccharose par chromatographie après enrichissement.

a) Pour le saccharose par chromatographie directe :

— le symbole « + » signifiera que le taux de saccharose par rapport aux sucres totaux est supérieure à 1/200, et qu'il correspond, comme nous l'avons vérifié dans tous les cas, au taux de saccharose trouvé par les méthodes chimiques.

— Le symbole « + faible » signifiera que le taux de saccharose est au voisinage de 1/200 des sucres totaux ; il correspond au cas où nous sommes à la limite de la sensibilité de cette technique.

— Le symbole « — » signifiera que l'on n'a pas pu mettre en évidence de saccharose par cette méthode.

b) Pour le saccharose par chromatographie après enrichissement :

— Le symbole « + » signifiera simplement que l'essai est faiblement positif et donc que le taux de saccharose est voisin de 1/2000 de la quantité des sucres totaux.

— Si le spot est assez intense, nous désignerons le résultat par le symbole « ++ » qui correspondra environ au cas où le taux de saccharose est voisin de 1/500 de la quantité des sucres totaux.

— Si le spot est très intense, nous désignerons le résultat par le symbole « +++ ». Mais dans ce cas nous rejoignons l'exemple où le chromatographie directe donne un résultat « + faible »,

Année 1951

TABLEAU VII

Etat de maturité	Date de cueillette	Cépages	Origine	pH	Sucres réducteurs g. p. 1000	Saccharose g. p. 1000	Saccharose par chromatographie directe	Saccharose par chromatographie après enrichissement
mûr	10-IX	Chasselas	La Tresne	3	134,6	2,2	+	
—	25-VIII	Malaga	Espagne	3,5	252	7,5	+	
—	—	—	—	3,5	218	15,7	+	
—	3-IX	Muscat rouge	Midi de la France	3,2	172	?	+ faible	+ + +
—	6-IX	—	La Tresne	3,1	135	?	+ faible	+ + +
véraison	17-VIII	—	—		97	?	—	+ +
mûr	10-IX	Cabernet	—	3,2	152	?	—	+
—	—	Merlot	—	3,4	134	?	+ faible	+ + +
—	—	Malbec	—	3,3	133,8	?	+ faible	+ + +
—	17-IX	Sémillon	—	3,4	194	3	+	
—	—	—	Ch^t Lafont-Sauternes	3	173	?	—	+ +
rôti	26-IX	—	—	3,5	299,3	1,9	+	
mûr	17-IX	—	Ch^t Suduiraut-Sauternes	3,5	210	?	+ faible	+ + +
rôti	26-IX	—	—	3,7	256	0,9	+ faible	+ + +
mûr	17-IX	—	Ste-Croix-du-Mont	3,1	187	?	—	+
rôti	26-IX	—	—	3,5	304	?	—	+
mûr	17-IX	—	Rions	3,1	268,5	?	—	+
rôti	26-IX	—	—	3,4	330	?	—	+ +
mûr	17-IX	Sauvignon	La Tresne	3,1	222	?		+
			Ch^t Lafont-Sauternes	3,1	222	6,3		
rôti	26-IX	—	—	3,7	358	2,9		
mûr	17-IX	—	Ch^t Suduiraut-Sauternes	3	205	3,6	+	
rôti	26-IX	—	—	3,4	312	1,6	+ faible	+ + —

TABLEAU VIII

Année 1951

Etat de maturité	Date de cueillette	Cépages	Origine	pH	Sucres réducteurs g. p. 1000	Saccharose g. p. 1000	Saccharose par chromatographie directe	Saccharose par chromatographie après enrichissement
mûr	17-IX	Sauvignon	Ste-Croix-du-Mont	3,3	270	?	—	+
rôti	26-IX	—	—	3,5	334	?	—	++
mûr	17-IX	Muscadelle	—	3,35	216	2,3	+	
rôti	26-IX	—	—	3,6	324	6	+	
mûr	17-IX	—	Rions	3,1	135	?	—	+ +

TABLEAU IX

Année 1952

Etat de maturité	Date de cueillette	Cépages	Origine	pH	Sucres réducteurs g p. 1000	Saccharose g p. 1000	Saccharose par chromatographie directe	Saccharose par chromatographie après enrichissement
vert	27-VI	Chasselas	La Tresne		2,7	?	+ faible	+ + +
véraison	17-VIII	—	—		109	?	—	+ +
mûr	4-IX	—	—	3,1	123,1	?	+ faible	+ + +
—	23-VIII	—	Hérault	3,2	130	6,7	+	
vert	27-IV	Muscat	La Tresne		4,2	?	+ faible	+ + +
véraison	28-VII	—	—		48	?	+ faible	+ + +
mûr	21-VIII	—	—	3,5	92	1	+ faible	+ + +
véraison	30-VII	Hybride 46-43	—		52	3,8	+	
mûr	4-IX	—		3,4	110,2	4,1	+	
—	8-IX	—	—	3,5	120	3,4	+	

TABLEAU X

Année 1952

Etat de maturité	Date de cueillette	Cépages	Origine	pH	Sucres réducteurs g p. 1000	Saccharose g p. 1000	Saccharose par chromatographie directe	Saccharose par chromatographie après enrichissement
mûr	24-VIII	Malbec	La Tresne	3,2	105	4,1	+	
—	10-IX	—	—	3,6	195	1,3	+ faible	+ + +
vert	27-VI	Cabernet	—		5,7	?	—	+ +
véraison	28-VII	—	—		36	?	+ faible	+ + +
mûr	4-IX	—	—	3,3	135	1	+ faible	+ + +
—	—	Merlot	—	3,45	157	2	+	
—	31-VIII	Muscat noir	Var	4	159	6,3	+	
—	—	Alicante	—	3,9	135	1,7	+ faible	+ + +
—	—	Frontignan	—	3,7	162	4,1	+	
—	—	Cinsault	—	3,8	178	?	+ faible	+ + +
—	—	Aramon	—	3,7	156	1,4	+ faible	+ + +
—	—	Directs Ugni noirs	—	3,8	147	5,2	+	
—	—	Jacquez	—	3,7	159	3,5	+	
—	—	Directs Ugni gris	—	—	98	1,7	+ faible	+ + +
—	—	Directs Ugni blancs	—	3,9	164	3,4	+	
—	—	Plomb de Marseille	—	—	147	1	+ faible	+ + +
—	12-IX	Seyre Villard 18 283	Bordeaux	3,3	151	9	+	
—	—	Seyre Villard 18 315	—	3,1	150	2,85	+	
	—	Hybride de table (treille) n° 1	—	3,3	105	1,1	+ faible	+ + +

Année 1952

TABLEAU XI

Etat de maturité	Date de cueillette	Cépages	Origine	pH	Sucres réducteurs g p. 1000	Saccharose g p. 1000	Saccharose par chromatographie directe	Saccharose par chromatographie après enrichissement
mûr	12-IX	Excelsior table	Bordeaux	3,3	154	3,3	+	
—	—	Seyre Villard 23 410	—	3,4	155	9	+	
—	—	Hybride de table (treille) n° 2	—	3,2	123	4,3	+	
—	—	Carignan	Algérie	3,6	118	2,1	+	
—	—	Muscats blancs	—	3,8	76	?	+ faible	+ + +
—	10-IX	Sémillon	Ch^t Suduiraut-Sauternes	3,6	177	2	+	
—	22-IX	—	—	3	141	2,2	+	
rôti	—	—	—	3,1	211	1,4	+ faible	+ + +
mûr	10-IX	—	Ste-Croix-du-Mont	3,6	207	1,3	+ faible	+ + +
rôti	18-IX	—	—	3,2	276	2,8	+	
mûr	10-IX	—	Rions	3,4	264	2,5	+	
rôti	—	—	—	3,6	183	2,4	+	
mûr	—	—	La Tresne	3,5	179	1,2	+ faible	+ + +
—	18-IX	—	Créon	3,1	166	1,2	+ faible	+ + +
—	10-IX	Sauvignon	Ch^t Suduiraut-Sauternes	3,1	219	3,1	+	
	22-IX			3	179	?	+ faible	+ + +
rôti				3,1	225	1	+ faible	+ + +
mûr	10-IX		Ste-Croix-du-Mont	3,1	189	3,5	+	
rôti	18-IX		—	3,2	264	?	—	+
mûr	10-IX	—	Rions	3,5	246	?	—	+ +

TABLEAU XII

Année 1952

Etat de maturité	Date de cueillette	Cépages	Origine	pH	Sucres réducteurs g p. 1000	Saccharose g p. 1000	Saccharose par chromatographie directe	Saccharose par chromatographie après enrichissement
rôti	10-IX	Sauvignon	Rions	3,6	273	1,5	+ faible	+ + +
mûr	—	—	La Tresne	3,4	156	2,4	+	
—	18-IX	—	Créon	3	163	1,3	+ faible	+ + +
rôti	—	—	—	3	225	?	—	+
mûr	10-IX	Muscadelle	Ch^{t} Suduiraut-Sauternes	3,3	156	3,5	+	
—	22-IX	—	—	2,9	224	3,7	+	
rôti	—	—	—	3,1	216	4,7	+	
mûr	10-IX	—	Ste-Croix-du-Mont	3,3	215	2,6	+	
rôti	18-IX	—	—	3,2	201	?	—	+
mûr	10-IX	—	Rions	3,5	234	3	+	
rôti	—	—	—	3,7	256	?	—	+
mûr	—	—	La Tresne	3,6	160	2,7	+	
—	18-IX	—	Créon	3	204	2	+	
—	10-IX	Colombar	La Tresne	3,3	143	6,5	+	
—	—	—	Créon	2,7	170	5,7	+	
—	22-IX	La Mondeuse	Isère	2,3	154	?	+ faible	+ + +
—	—	Le Persan	—	2,4	147	?	—	
—	—	Durif	—	2,5	176	?	—	
—	—	La Roussette	—	2,5	149	?	+ faible	+ + +
—	—	Verdesse	—	2,6	162	1,2	+ faible	+ + +

soit une concentration en saccharose égale au 1/200 du taux des sucres totaux.

Résultats.

Nous les résumons dans les tableaux N° VII, VIII, IX, X, XI, XII.

Nous essayerons ensuite de les interpréter et de les discuter.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

L'impression générale qui se dégage de ces résultats est que tous les raisins renferment du saccharose. Nous le retrouvons dans le jus d'extraction obtenu par expression des baies. Le plus souvent ce taux de saccharose est très faible, et représente en quelque sorte des traces par rapport aux sucres réducteurs qui sont exclusivement le glucose et le lévulose. Quelquefois, cependant, le taux de saccharose n'est pas négligeable, sans être très important. Nous avons quelques exemples où le taux de saccharose est compris entre 2 g p. 1000 et 5 g p. 1000. Rarement ce taux est supérieur à 6 g p. 1000 ; nous le voyons atteindre 9 g p. 1000, et tout à fait exceptionnellement, dans un *Malaga* provenant d'Espagne, nous l'avons vu s'élever à 15,7 g p. 1000.

Nous allons maintenant, en étudiant en détail tous ces résultats, essayer de déterminer quelles sont les influences sur le taux en saccharose :

— du cépage
— de l'origine
— du *Botrytis cinerea*
— de l'année
— du pH

Influence du cépage.

Nous avons travaillé sur l'espèce *Vitis vinifera*. Nous en avons étudié de très nombreuses variétés. Nous avons également envisagé quelques cépages hybrides, qui proviennent du coupage de cette espèce européenne avec diverses espèces américaines.

Considérons successivement plusieurs cas :

1° Considérons tout d'abord *les cépages qui fournissent les grands vins blancs de notre région*. Nous avons travaillé sur plu-

sieurs variétés, de même degré de maturité, de la même année, provenant du même endroit.

Le tableau XIII montre que les cépages Sémillon, Sauvignon, Muscadelle renferment toujours du saccharose. C'est la muscadelle qui est la plus riche avec un taux de 3 g p. 1000 en moyenne ; puis vient le Sauvignon avec un taux de 2,5 à 2 g p. 1000. Le Sémillon est le moins riche avec 1 g p. 1000 de saccharose.

Ces différences sont faibles et de peu d'importance.

TABLEAU XIII

Saccharose dans les cépages à vins blancs du Bordelais
Année 1952

Date	Localité	Sémillon	Sauvignon	Muscadelle
	1° *Raisins mûrs*			
10-IX	Cht Suduiraut	2	3,1	3,5
—	Ste-Croix-du-Mont	1,3	3,5	2,6
—	Rions	2,5	?	3
—	La Tresne	1,2	2,4	2,7
22-IX	Cht Suduiraut	2,2	3,1	3,7
	2° *Raisins rôtis*			
10-IX	Rions	2,4	1,5	?
18-IX	Ste Croix-du-Mont	2,8	?	?
22-IX	Cht Suduiraut	1,4	1	4,7

2° *Cépages hybrides.*

Beaucoup plus intéressante est la distribution du saccharose dans les cépages hybrides.

Le tableau XIV montre que dans ces cépages on trouve des quantités de saccharose intéressantes, variant le plus souvent entre 3 et 5 g p. 1000. Pour deux cépages nous avons vu ce chiffre s'élever jusqu'à 9 g p. 1000. Une seule fois il a été relativement bas : 1,7 g p. 1000.

On peu en conclure que le saccharose est un sucre important des raisins hybrides, à des taux variables qui vont jusqu'à 9 g p. 1000 en moyenne. Ceci ne nous étonne pas tellement ; les travaux de Gore nous ont montré que la variété américaine *Vitis rotundifolia* contenait du saccharose à des taux allant de

0,7 à 19 g p. 1000. Il est normal et intéressant de constater que des cépages qui proviennent d'un coupage entre l'espèce vinifera et d'autres espèces du genre *Vitis* contiennent du saccharose à des taux intermédiaires entre ces deux espèces :

V. rotundifolia : 0,7-19 g p. 1000
V. vinifera : traces-4 g p. 1000
Hybride : 1,7-9 g p. 1000.

Dans ce cas on ne peut pas dire que le cépage joue un rôle, puisqu'il s'agit en réalité d'une espèce différente.

TABLEAU XIV
Distribution du saccharose dans les cépages hybrides

Cépages	Dates	Provenance	Saccharose g p. 1000	Saccharose par chromatographie directe
8. IX. 1952	Hybride rouge 46-43	La Tresne	4,1	+
—	—	—	3,4	+
31. VIII. 1952	Direct Ugni noirs	Var	5,2	+
—	— gris	—	1,7	—
—	— blancs	—	3,4	+
12. IX. 1952	Seyre Villard 18 315	Bordeaux	2,85	+
—	— 18 283	—	9	+
—	— 23 410	—	4,3	+
—	Hybride de table de treille n° 1	—	3,3	+
—	Excelsior table	—	9	+
31. VIII. 1952	Jacquez	Var	3,5	+

On voit l'importance que présente l'existence de raisins provenant de cépages hybrides dans la vendange ; cette présence est fréquente pour les vins rouges orginaires. Il faudra être très prudent pour affirmer une chaptalisation de ces derniers, surtout si le taux de saccharose n'est pas trop élevé et compatible avec les chiffres que vous nenons d'indiquer.

3° *Raisins à teneur élevée en saccharose.*

Un raisin nous a frappé par sa richesse en saccharose. C'est

le Malaga. Ces Malagas ont été achetés dans le commerce, mais avec garantie de leur origine. Nous avons trouvé :

— première expérience : 7,5 g p. 1000

— seconde expérience : 15,7 g p. 1000

Une chromatographie directe nous a confirmé ces résultats.

Ces raisins proviennent, comme nous l'avons dit, d'Espagne. Malheureusement, nous n'avons pas pu nous procurer d'autres raisins d'Espagne ; de plus le Malaga véritable vient uniquement d'Espagne ; il ne nous a donc pas été possible de savoir si le taux élevé de saccharose est lié à l'origine ou au cépage. Nous opterions pour un compromis, en pensant que ces deux facteurs ont une influence.

En réalité ceci a peu d'importance, le Malaga dans notre région est uniquement un raisin de table ; il n'entre dans la composition d'aucun moût.

Conclusion.

L'influence du cépage sur le taux de saccharose des raisins semble réelle.

Elle est très faible pour les raisins qui constituent la base de nos grands vins blancs. Elle paraît importante en ce qui concerne les hybrides, qui sont coupés de diverses espèces américaines de *Vitis* et de *Vitis vinifera*. Il faut signaler un cépage qui paraît riche en saccharose : le Malaga, mais il a peu d'importance.

Influence de l'origine.

L'origine des raisins a une grande importance pour leur composition ; ces différences ne portent pas sur les éléments essentiels comme les sucres réducteurs ou les acides, mais sur des facteurs à des taux faibles, dont l'ensemble contribue à la caractéristique du vin futur, à son cachet particulier. Il est bien connu qu'un vin fait avec des raisins provenant de Sauternes ne ressemble pas à un vin fait avec des raisins provenant de Sainte-Croix-du-Mont et encore moins à celui fait avec des raisins provenant des graves de l'Entre-deux-Mers, même si ces raisins appartiennent aux mêmes cépages.

Mais le tableau XIII montre que l'origine semble avoir peu d'importance sur le taux des raisins en saccharose.

Influence du botrytis cinerea.

Lorsque la maturation est complète, on recherche pour les raisins des grands vins blancs une surmaturation par le *Botrytis cinerea* ; pendant cette surmaturation les acides sont brûlés, les sucres sont concentrés. Nous avons voulu voir si au cours de cette surmaturation, il n'y avait pas des modifications concernant la nature des sucres, et si les raisins « rôtis » ne contenaient pas de saccharose à des taux différents de ceux des raisins mûrs.

Comparons des raisins mûrs et des raisins ayant subi l'action de ce champignon.

Le tableau XIII montre que son action est inconstante et n'entraîne que des variations faibles.

Influence de l'année.

La qualité des raisins n'est pas la même chaque année. Quelquefois ils permettent de faire un très bon vin ; d'autres fois ils

TABLEAU XV

Influence de l'année sur le taux en saccharose des raisins.

Dates	Cépages	Origine	Année	Saccharose g p. 1000 méthodes chimiques	Chromatographie directe	Chromatographie après enrichissement	Saccharose g p. 1000 par chromatographie.
17.IX	Sémillon	Sauternes	1951	?	+ faible	+++	1
10.IX	—	—	1952	2	+		2
17.IX	—	Ste-Croix-du-Mont	1951	?	—	+	0,2
10.IX	—	—	1952	1,3	+ faible	+++	1,3
17.IX	—	Rions	1951	?	—	+	0,2
10.IX	—	—	1952	2,5	+ faible	+++	1,5
17.IX	Sauvignon	Sauternes	1951	3,6	+		3,6
10.IX	—	—	1952	3,1	+		3,1
17.IX	—	Ste-Croix-du-Mont	1951	?	+ faible	+++	1
10.IX	—	—	1952	3,5	+		3,5
17.IX	Muscadelle	Ste-Croix-du-Mont	1951	2,3	+		2,3
10.IX	—	—	1952	2,6	+		2,6
—	—	Rions	1951	?	—	++	0,5
17.IX	—	—	1952	3	+		3
10.IX	Malbec	La Tresne	1951	?	+ faible	+++	1
24.VIII	—	—	1952	4,1	+		4,1

fournissent un vin de qualité moyenne ou même médiocre avec pourtant les mêmes moyens de vinification. Cette influence résulte, il est vrai, du temps ; elle dépend directement de l'abondance ou de la rareté des journées ensoleillées ou pluvieuses. On peut donc rattacher cette influence à celle du climat.

Le tableau XV montre que des raisins, provenant en deux années différentes, de mêmes cépages, prélevés dans les mêmes crus et à la même époque présentent des différences qui apportent une preuve de l'influence prépondérante du climat.

TABLEAU N° XVI

Moyennes thermométriques et pluviométriques de l'observatoire de Floirac.

	Août 1951	Août 1952
Moyenne des minima	13° 47	15° 18
Moyenne des maxima	24° 41	27° 52
Moyenne mensuelle	18° 94	21° 35
Journée de grande chaleur	1	7
Pluie totale	90mm.40	63mm.1

Il ressort de ce tableau que d'une façon générale les raisins de l'année 1952 sont plus riches en saccharose que ceux de l'année 1951. Or l'année 1951 présenta un été humide et froid ; par contre, l'année 1952 se présenta tout d'abord avec un été sec et chaud. Comme le montre le tableau XV, les raisins de l'année 1952 ont été cueilli, pour un même degré de maturité, 8 jours plus tôt qu'en 1951. Les moyennes thermométriques et pluviométriques des mois d'ooût de ces deux années confirment ces différences ; le mois d'août joue un rôle important dans le développement et la maturation du raisin ; c'est à ce moment-là que se produit en particulier la véraison. Les valeurs que nous indiquons dans le tableau XVI sont celles relevées à l'observatoire de Floirac.

Influence du pH.

On sait que le pH d'un liquide est en relation avec la quantité et la force des acides et des bases libres et combinées présentes dans le milieu. Le saccharose est un diholoside qu'une hydrolyse

TABLEAU XVII

Teneur en saccharose de raisins acides

Dates	Cépages	Origine	pH	Saccharose g. p. 1000 méthodes chimiques	Chromatographie directe	Chromatographie après enrichissement	Saccharose par chromatographie
22-IX-1952	Sémillon	Sauternes	3	2,2	+		2,2
18-IX-1952	—	Créon	3,1	1,2	+ faible	+ + +	1
10-IX-1952	Colombar	—	2,7	5,7	+		5,7
10-IX-1952	Sauvignon	Sauternes	3,1	3,1	+		3,1
10-IX-1952	—	Ste-Croix-du-Mont	—	3,5	+		3,5
22-IX-1952	Muscadelle	Sauternes	2,9	3,7	+		3,7
18-IX-1952	—	Créon	3	2	+		2
22-IX-1952	Durif	Isère	2,5	?	—	+ +	0,5
4-IX-1952	Chasselas	La Tresne	3,1	?	+ faible	+ + +	1

TABLEAU XVIII

Teneur en saccharose de raisins peu acides.

Dates	Cépages	Origine	pH	Saccharose g. p. 1000 méthodes chimiques	Chromatographie directe	Chromatographie après enrichissement	Saccharose par chromatographie
31-VIII-1952	Muscats noirs	Var	4	6,3	+		6,3
—	Directs Ugni blancs		3,9	3,4	+		3,4
10-IX-1952	Sémillon	Rions	3,6	2,4	+		2,4
—	Muscadelle		3,5	3	+		3
10-IX-1952	Sémillon	Ste-Croix-du-Mont	3,6	1,3	+ faible	+ + +	1
—	Sauvignon mûr	Rions	3,5	?	+ faible	+ + +	1
—	— rôti	—	3,6	1,5	+ faible	+ + +	1
—	Muscadelle rôti	—	3,7	?	—	+	0,2
31-VIII-1952	Aramon	Var	—	1,4	+ faible	+ + +	1

faible par les acides transforme en sucre interverti. Le pH des jus de raisins pourrait avoir une influence sur la richesse en saccharose de ce jus ; un jus très acide semblerait devoir n'en contenir que très peu, alors qu'un jus peu acide au pouvoir d'hydrolyse plus faible, en contiendrait davantage. On sait qu'en général dans les fruits il n'en est pas ainsi, et que des jus très acides comme celui de citron sont riches en saccharose.

Nous avons voulu vérifier s'il en était ainsi pour le jus de raisins.

1° Considérons quelques jus à *pH relativement bas*, entre 3,1 et 2,7, le tableau N° XVII montre que certains raisins renferment du saccharose, alors que d'autres en renferment beaucoup moins.

2° Considérons quelques jus à *pH plus élevé*. Le tableau XVIII montre que certains renferment du saccharose alors que d'autres en renferment très peu.

ACTIONS FERMENTAIRES DANS LA BAIE DE RAISIN

Nous venons de voir que le saccharose est la principale forme de transport des glucides. Il nous faut expliquer l'absence de ce sucre, tout au moins à un taux comparable à celui des autres organes, dans la baie. Deux facteurs peuvent être mis en cause pour expliquer la disparition de ce sucre : l'acidité du contenu cellulaire de la pulpe, ou la présence d'une invertine dans la baie.

Influence de l'acidité.

L'acidité ne suffit pas à expliquer l'hydrolyse presque complète sur saccharose dans la baie. Nous avons d'ailleurs montré que le pH est sans influence sur la richesse des jus de raisins en saccharose. Des raisins de pH élevé en sont très pauvres, alors que des raisins de pH faible en renferment une quantité appréciable. Buignet [28] a déjà montré que la richeesse en saccharose des fruits est sans relation avec l'acidité de ses fruits.

Nous avons déterminé l'hydrolyse spontanée du saccharose à des pH différents variant de 2,2 à 3,6 et à la température de 31° C. Le température que nous avons choisie est facilement atteinte en été lors d'une exposition des baies au soleil. Les pH que nous indiquons sont ceux aux alentours desquels oscillent les contenus

cellulaires des diverses variétés de raisins. Nous avons utilisé des solutions de saccharose à 100 g p. 1000 ; nous les avons amenées au pH voulu en milieu tartrique ; nous les avons placées dans une étuve réglée à 31° C ; nous avons effectué des dosages de sucres réducteurs par la méthode de Gabriel Bertrand.

Nous avons déterminé à l'aide des résultats trouvés le taux de saccharose hydrolysé par heure, la constante d'hydrolyse de ce sucre, et le temps nécessaire à une hydrolyse de la moitié du saccharose en réaction, ou temps de demi-réaction. Ces déterminations ont été faites pour les pH suivants : 2,2 — 2,3 — 2,8 — 3,1 — 3,6.

TABLEAU XIX

Vitesse d'hydrolyse du saccharose en fonction du pH à 31° C

pH	Saccharose g p. 1000 hydrolysé en 57 heures	Saccharose hydrolysé par heure pour 1 partie de saccharose	Constante d'hydrolyse du saccharose	Durée de demi-réaction en heures
2,2	9,0	$\frac{1}{633}$	0,00065	462
2,3	7,3	$\frac{1}{780}$	0,00055	545
2,8	2,4	$\frac{1}{2.375}$	0,00018	1.666
3,1	1,0	$\frac{1}{5.700}$	0,00007	4.287
3,6	0,34	$\frac{1}{16.765}$	0,000026	11.538

Le tableau N° XIX qui rassemble les résultats, montre que la vitesse d'hydrolyse du saccharose sous l'influence des ions H^+ est bien insuffisante pour expliquer l'absence de sucre à un taux important dans la baie, aux pH compatibles avec le développement et la maturation des baies de raisins.

La constante d'hydrolyse K a été calculé d'après la relation :

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{Co}{C}$$

dans laquelle : Co représente la concentration initiale de la solution en saccharose.

C représente la concentration de la solution en saccharose au temps t.

La durée de demi-réaction a été calculée d'après la relation :

$$\theta_2 = \frac{\log 2}{K}$$

Existence et influence d'une saccharase.

Il faut donc admettre l'existence d'une diastase hydrolysante du saccharose dans la baie. De nombreux auteurs ont montré l'existence de cette saccharase.

Mathieu [**42**] a montré que chaque fois que du sucre cristallisé est ajouté dans du moût ou du vin en pleine fermentation, il suffit souvent de quelques heures pour avoir une inversion portant sur une dose de 50 g de sucre par litre. Après 24 heures tout le saccharose a disparu.

Martinand [**8**] étudie les cépages « Petit Bouschet », d'après cet auteur 0,60 Ml de moût prélevé le 23 juillet 1901 sont capables d'invertir en quatre jours 0,20 g de sucre. Les moûts prélevés plus tard au mois d'août sont tels que 0,40 Ml peuvent hydrolyser en quatre jours 0,20 g de saccharose.

Fallot et Michon [**43**] travaillent sur des moûts de raisins blancs « Romorantin ». Ils constatent qu'en 24 heures, l'hydrolyse de 34 g de saccharose par litre de moût est complète. L'hy-

TABLEAU XX

Feuilles de Merlot, récoltées le 17 avril 1953 à 16 heures au Château Palmer (Médoc).

Les résultats sont donnés en grammes pour 1000 grammes de feuilles fraîches.

Stabilisation	Sucres réducteurs	Saccharose	Sucres totaux
17 avril - 18 heures	3,30	6,58	9,88
18 avril - 14 heures	2,80	4,80	7,60
20 avril - 14 heures	2,62	2,31	4,93

drolyse de 51 g de sucre par litre de moût est presque complète en 24 heures ; elle l'est en 48 heures.

Nous avons pu nous rendre compte de l'existence de cette saccharase par nos *recherches personnelles*. Nous avons montré que cette diastase se trouve d'ailleurs non seulement dans la baie, mais également dans tous les organes de la vigne et en particulier dans les feuilles.

Nous avons étudié des moûts prélevés quelques heures après le foulage (2 à 3 heures) et déféqués aussitôt. Nous avons comparé les valeurs trouvées avec celles des raisins entrant dans la composition de ce moût. Le tableau XXI montre que l'hydrolyse du saccharose est rapide et complète ; si dans la baie il y a de petites quantités de saccharose, c'est parce qu'il y a un équilibre entre le saccharose qui, constamment arrive dans cette baie, et le saccharose qui est constamment détruit par hydrolyse sous l'influence

TABLEAU XXI

Origine	Cépages	Moût ou raisin	Saccharose g p. 1000 méthodes chimiques	Chromatographie directe	Chromatographie après enrichissement	Saccharose g p. 1000 par chromatographie
La Tresne	Sauvignon	raisin mûr	2,4	+		2,4
—	—	moût	?	—	—	0
Créon	Sémillon	raisin mûr	1,2	+ faible	+++	1
—	—	moût	?	—	—	0
Sauternes	Sémillon	raisin mûr	2,2	+		2,2
—	Sauvignon	—	?	+ faible	+++	1
—	Sémillon	moût	?	—	—	0
—	Sauvignon	mixte				
La Tresne	Malbec	raisin mûr	4,1	+		4,1
—	Merlot	—	2	+		2
—	Cabernet	—	1	+ faible	+++	1
—	Malbec	moût	?	—	—	0
—	Merlot	mixte				
—	Cabernet					

Les moûts ont été prélevés 3 heures après le foulage environ. Nous comparons les valeurs en saccharose trouvées avec celles des raisins entrant dans la composition de ces moûts.

de l'invertine. Dans les moûts, où l'apport de saccharose est arrêté, ce sucre ne tarde pas à disparaître.

De même la diminution de la proportion du saccharose, par rapport aux sucres totaux, dans des feuilles de vigne abandonnées à l'obscurité dans une enceinte close à la température du laboratoire, montre l'existence d'invertine dans ces organes. Le tableau XX montre ce phénomène.

Conclusion.

Nous devons admettre l'existence, dans la vaie du raisin, d'invertine ; son activité est suffisante pour hydrolyser le saccharose qui existe dans la baie ; ce sucre semble être la forme de transport des glucides dans la plante. La faible quantité de saccharose qui existe dans la baie ne peut être expliquée que par un équilibre entre les apports de saccharose et les phénomènes d'hydrolyse.

Cette invertine est d'ailleurs répandue dans toute la plante et on la retrouve en particulier dans les feuilles de vigne.

LE SACCHAROSE DANS LES TIGES DE LA VIGNE

Les tiges représentent des organes de réserve pour les sucres après la végétation. Il y a accumulation au moment de l'aoûtement. Ces sucres accumulés serviront l'année suivante au moment du débourrement de substances nutritives en attendant que la plante puisse en élaborer elle-même. Quelle est la nature de ces sucres ? On sait qu'une grande partie est transformée en amidon. Mais il reste également des sucres simples. Ce sont eux que nous avons voulu étudier.

Notre étude a porté sur des sarments de l'année, préalablement soumis à la stabilisation.

Nous avons déterminé le taux de sucres réducteurs, le taux de saccharose par les méthodes chimiques et nous avons vérifié par chromatographie s'il s'agissait bien de saccharose.

Résultats chromatographiques.

Ils confirment dans tous les cas que la substance capable de donner par hydrolyse des sucres réducteurs est bien du saccharose, tout au moins en majeure partie.

Discussion des résultats.

Le tableau XXII montre que le saccharose est contenu abondamment dans les sarments après l'aoûtement. Il représente plus de la moitié des sucres totaux. Son pourcentage est supérieur à celui des organes qui permettent sa migration. Il faut donc admettre qu'il peut se resynthétiser en partie à partir du glucose et du lévulose qui l'accompagnent.

TABLEAU XXII

Saccharose dans les tiges de vigne.

Date	Cépages	Provenance	Sucres réducteurs en sucre interverti g. p. 1000	Saccharose par les méthodes chimiques g. p. 1000
4 novembre 1952	Malbec	La Tresne	7,15	12,75
—	Semillon	—	9,05	14,45

LE SACCHAROSE DANS LES RACINES DE LA VIGNE

Une étude identique et simultanée portant sur les racines de la vigne, nous a conduit à des résultats similaires, exposés dans le tableau XXIII.

Tableau XXIII

Saccharose dans les racines de vigne.

Date	Cépage	Provenance	Sucres réducteurs en sucre interverti g. p. 1000	Saccharose par les méthodes chimiques g. p. 1000
4 novembre 1952	Malbec	La Tresne	9,4	10,8
—	Semillon	—	9,8	11,2

La distribution du saccharose dans la vigne.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Si nous reprenons les grandes lignes du métabolisme des glucides dans la vigne, nous pourrons, à la lumière des résultats précédents, préciser le rôle du saccharose dans cette plante, ainsi que les variations que subit ce sucre au cours des migrations qui lui sont imposées par son mécanisme vital. C'est en particulier les taux variables de ce sucre dans les différents organes de la vigne qui nous permettent cette interprétation.

Nous savons que les glucides prennent naissance par photosynthèse dans les organes verts, les feuilles en particulier. Dans ces feuilles on a montré l'existence de glucose, de lévulose, d'amidon. Nous apportons une confirmation aux travaux qui attestent de l'existence du saccharose, grâce à l'usage d'une méthode spécifique et nouvelle. Le saccharose est le sucre le plus important des feuilles, son pourcentage augmente avec le temps d'exposition au soleil. Il semble que nous devons penser, comme Brown et Moriss que le saccharose serait formé au cours de la photosynthèse. Il aurait dans la feuille le rôle d'une substance de réserve, en solution dans le suc des vacuoles.

Ces sucres sont envoyés dans d'autres organes. Nous avons étudié la composition en sucres des pétioles qui représentent les organes de transmission typiques. Nous y avons trouvé du saccharose en quantités encore importantes, mais à des pourcentages nettement plus faibles que dans les feuilles. Le saccharose lorsqu'il quitterait les cellules de la feuille pour les vaisseaux libéro-ligneux, qui permettent sa migration vers d'autres organes, commencerait à être hydrolysé en sucre interverti. Sans doute parce qu'à ce moment-là il serait en contact avec l'invertine. Cette hydrolyse est déjà très sensible à la sortie des feuilles, dans les pétioles. Elle ne fera que se continuer dans les ogranes de transmission.

Avant les vendanges, c'est vers les raisins que sont acheminés ces sucres. Mais on ne retrouve plus que des traces de saccharose dans le raisin. La présence constante de ces traces est un signe que le saccharose est un sucre normal du métabolisme de la vigne, ce qui n'est pas pour nous surprendre ; nous savons en

effet que les réactions fermentaires sont plus ou moins lentes et plus ou moins complètes ; il s'établit des équilibres ; il est donc normal qu'on retrouve du saccharose dans les raisins. Ces taux sont très variables, et ne semblent obéir à aucune loi. Une étude détaillée des facteurs pouvant influencer sur cette teneur, nous a montré que seuls devaient être pris en considération :

— l'influence de l'hybridation, qui augmente nettement le taux de saccharose, par apports de pieds de vigne américains dont les diverses espèces semblent être riches en saccharose ;

— l'influence du climat. La chaleur augmente le taux de saccharose des raisins pour une cause que nous ignorons, mais que nous avons montré être tout à fait indépendante de l'acidité et du pH des raisins.

Après les vendanges, par contre, les sucres vont s'accumuler dans les racines et les tiges ; ils constitueront là une substance de réserve en se transformant en amidon et aussi en redonnant en partie du saccharose. Ces glucides de réserve seront utilisés au printemps suivant, lors de la première poussée végétale.

CONCLUSIONS

Au cours de notre étude sur la nature et la distribution des glucides de la vigne, en particulier du saccharose, nous avons été amené à mettre au point une technique sensible, précise et spécifique de recherche et de dosage de ce sucre.

Cette technique comporte deux temps :

— La préparation, à partir des divers organes de la vigne, de solutions propres à l'identification et au dosage du saccharose.

— l'identification et le dosage de ce sucre par des techniques chromatographiques.

Lorsque nous avons eu en mains cette technique, nous avons pu étudier et préciser la distribution du saccharose dans les divers organes de la vigne et à divers moments de la végétation. Nous avons montré que :

— Le saccharose est un glucide constant et important de la vigne. Il est élaboré dans les feuilles par photosynthèse. De là, il migre, par l'intermédiaire des pétioles, vers le grain ou les organes de réserve, suivant la période de la végétation.

Si nous considérons plus particulièrement le raisin, nous avons vu que les sucres qui existent dans la baie sont constitués presque essentiellement de sucres réducteurs. Le saccharose a été pour la majeure partie hydrolysé par l'invertine qui existe dans ces baies. On le retrouve cependant constamment dans ceux-ci, mais le plus souvent à l'état de traces.

Enfin, par l'étude de quelques moûts, nous avons pu voir que, dans les conditions ordinaires où un contrôle peut être exercé, la preuve par l'analyse de l'existence du saccharose dans ceux-ci, est très probablement un signe de chaptalisation.

LES PENTOSES DU RAISIN

HISTORIQUE

Lorsque des moûts sont soumis à la fermentation par les levures naturelles du raisin, si la fermentation est suffisamment bien conduite pour n'être entravée ni arrêtée par aucune cause accidentelle, on obtient un vin complètement fermenté. C'est le cas des vins rouges ordinaires et cotés, ainsi que de certains vins blancs dits secs par opposition aux vins blancs doux qui renferment encore des quantités appréciables de glucose et de lévulose leur donnant un goût plus ou moins liquoreux. De tels vins renferment cependant des substances réductrices pour la liqueur de Fehling. Quelle est donc la nature de ces substances infermentescibles, qui réduisent la liqueur de Fehling ?

Comboni [**45**] en 1896 montra la présence de pentosanes dans les vins. Il les dose par formation de furfural sous l'action de l'acide chlorhydrique. Il constate que les vins rouges italiens sont en général plus riches en pentosanes que les vins blancs. Cette différence tient aux méthodes de vinifications employées. Il trouve pour les vins rouges des valeurs comprises entre 0,64 et 1,32 g p. 1000 et pour les vins blancs entre 0,46 et 0,67 g p. 1000.

Wittman [**46**] en 1901 trouve dans les vins 0,41 à 0,48 g p. 1000 de pentosanes.

Plus tard, en 1906, Weiwers [**47**] dose les substances infermentesciblse de certains vins luxembourgeois, les exprime en arabinose et trouve des valeurs comprises entre 0,5 à 0,8 g p. 1000. Il montre qu'il s'agit de pentoses, qui pour lui seraient constitués d'arabinose et de traces de xylose. Il ne trouve pas de méthylpentose.

Scurti [**48**] en 1910 montre que les glucides des vins complètement fermentés sont constitués par des pentoses parmi lesquels l'arabinose (0,95-1,77 g p. 1000), des méthylpentoses, des pentosanes et des méthylpentosanes correspondants. Il trouve en outre du lévulose et du glucose.

Schaffer et Arbenz [**49**] montrent dans les vins complè-

tement fermentés l'existence de méthylpentose déterminé par eux rhamnose.

Pour Fellenberg [50] ces substances sont constituées pour les trois quarts d'arabinose et pour un quart de rhamnose.

Plus tard, en 1928, Heiduschka et Pyriki [51] dosent la matière réductrice infermentescible des vins. Ils trouvent des valeurs variant de 0,1 à 1,9 g p. 1000 exprimé en sucre interverti.

Gentilini [52] a suivi, au cours de la maturation, la variation du contenu en pentoses des raisins. Les valeurs augmentent, passent par une valeur maxima, puis décroissent.

Enfin, récemment, Tarentola [53] en Italie a repris la question au cours de plusieurs travaux en 1948 et 1950 pour essayer de préciser la quantité de pentosanes, de pentoses et de sucres fermentescibles, contenue dans les vins qui ont subi une fermentation complète. Tarentola prend également des vins doux, qu'il soumet préalablement à une refermentation ; cette opération, dont il indique la marche à suivre a pour but de débarrasser le vin de la plupart des sucres réducteurs qu'il contient. Il dose les pentoses et les pentosanes, par la méthode au furfural et à l'acide barbiturique, d'abord globalement, puis séparément par précipitation des pentosanes par l'alcool. Il dose d'autre part les substances réductrices totales, ainsi que le lévulose par la méthode colorimétrique et à l'acide chlorhydrique. Il conclut de ses travaux que :

— les vins italiens renferment moins de 2 g p. 1000 de sucres fermentescibles, soit pour la plupart entre 0,5 et 1,5 g p. 1000. Les vins rouges renferment davantage de pentoses que les vins blancs, ce qu'avait déjà remarqué Comboni. Il trouve : 0,47-1,99 g p. 1000 pour les vins rouges, et 0,36-1,34 g p. 1000 pour les vins blancs. Cette différence tiendrait à ce que les rafles contiennent davantage de pentoses que les baies et les jus de raisins. Aussi les vins rouges pour lesquels on conserve ces rafles au cours de la fermentation, sont plus riches en pentoses que les vins blancs.

Une partie de pentoses est à l'état de pentosanes.

A côté de ces pentoses et pentosanes, on trouve dans les vins secs des hexoses, probablement encore susceptibles de fermentation, ce qui est en accord avec les travaux de Scurti. Il résulterait d'une étude de Von der Heide et de Burkard [54] que ces

hexoses seraient constitués de lévulose parce que la levure du vin fermente plus rapidement le glucose. Dans certains vins secs, TARENTOLA a cependant trouvé du glucose à dose faible.

***

Il ressort de ces travaux que les substances infermentescibles des vins sont constituées essentiellement de pentoses et de pentosanes, les derniers se formant dans les cellules végétales par l'intermédiaire des pentoses, sous l'influence d'une déshydratation. Le taux de ces substances varie en général de 0,4 à 2 g p. 1000.

Mais les auteurs ne sont pas d'accord sur la nature de ces substances. La plupart, TARENTOLA en particulier, ne les caractérisent pas et les dosent en bloc. D'autres distinguent divers pentoses ; ces derniers ne sont d'ailleurs pas d'accord entre eux ; seule l'existence de l'arabinose est admise par tous. WEIWERS trouve, à côté de l'arabinose, dans des vins du Rhin, du xylose, mais pas de méthylpentose. FELLENBERG, puis SCHAFFER et ARBENZ ne trouvent pas de xylose, mais trouvent du rhamnose.

A côté de ces pentoses et pentosanes, plusieurs auteurs, SCURTI, TARENTOLA, trouvent dans des vins qui ont complètement fini de fermenter, des hexoses fermentescibles qui seraient surtout constitués par du lévulose.

Enfin, il est à remarquer que ces travaux, relativement restreints, portent uniquement sur des vins italiens ou des vins du Rhin.

L'étude de la nature et des proportions respectives des divers constituants infermentescibles des vins de la région bordelaise nous parut intéressante. Aucun travail, en effet, n'avait à ce jour été fait sur cette question ; cette étude venait s'intégrer dans le cadre de notre recherche qui est de déterminer la nature des glucides de la vigne, d'en préciser la distribution. Nous avons vu précédemment une étude sur le saccharose ; l'utilisation des vins complètement fermentés va nous permettre maintenant d'étudier les pentoses du raisin, grâce à l'élimination des substances gênantes qui sont les sucres fermentescibles : glucose et lévulose.

Les méthodes chimiques dont nous disposons ne nous per-

mettent pas de distinguer entre eux les divers pentoses : arabinos et xylose par exemple, sont des isomères optiques qu'il est très difficile de caractériser et, à plus forte raison, de doser séparément. Nous avons cherché à mettre au point une technique qui possède de telles qualités ; nous avons fait encore appel à la chromatographie de partage sur papier, dont les services en microanalyse ne se comptent plus. Nous distinguerons deux temps dans cette technique :

— une technique de caractérisation et de dosage des pentoses dans une solution pure de leur mélange ;

— l'obtention à partir des vins de solutions contenant ces pentoses et propres à la chromatographie de partage sur papier.

Nous avons appliqué cette technique à quelques vins de la région bordelaise, pour nous faire une idée de la nature et des proportions des pentoses des raisins, sucres qui coexistent à côté des glucides déjà connus : glucose, lévulose, saccharose.

Technique de caractérisation et de dosage des pentoses dans une solution pure de leur mélange.

Nous avons fait appel à la chromatographie de partage sur papier, qui seule pouvait nous donner la possibilité d'une séparation des pentoses et d'un dosage microanalytique.

Principe.

Il est bien connu. Nous n'y reviendrons pas.

Solvants.

Divers solvants ont été indiqués par Partridge [38].

Nous avons choisi les solvants I et II employés déjà lors de l'étude du saccharose.

Rf des sucres.

Ils ont été indiqués par Patridge.

Cet auteur utilisait du papier Watmann N° 1. Il trouvait les valeurs indiquées dans le tableau N° XXIV.

Nous avons utilisé le papier Durieux N° 122 à filtration lente.

TABLEAU XXIV
Rf. des pentoses et du rhamnose (Partridge).

	Solvant I	Solvant II
Arabinose	0,100	0,54
Xylose	0,125	0,44
Ribose	0,180	0,59
Rhamnose	0,220	0,59

Nous n'avons pas utilisé pour la caractérisation des sucres la valeur absolue de leur Rf ; nous avons préféré mesurer le rapport des chemins parcourus par ces sucres et par un sucre témoin ; nous avons choisi l'arabinose. Ce sucre, en effet, est le pentose le plus important des vins, celui que l'on retrouve toujours d'une façon très nette. C'est du moins ce que nous allons montrer, et ce que nous laissaient présumer les travaux antérieurs ; ce qui explique le choix de ce sucre comme élément de comparaison. Le rapport $\frac{\text{chemin parcouru par Pentose}}{\text{chemin parcouru par Arabinose,}}$ nous l'appellerons le R_A.

Nous avons trouvé comme valeur de R_A, les chiffres indiqués dans le tableau N° XXV.

TABLEAU XXV
Ra. des pentoses et du rhamnose.

	Solvant I	Solvant II
Arabinose	1	1
Xylose	1,25	0,81
Ribose	1,8	1,09
Rhamnose	2,2	1,09

RÉVÉLATEURS

Nous avons utilisé le révélateur à l'oxalate d'aniline indiqué par Horrocks [39]. Il donne avec les pentoses une tache rouge après cinq minutes à l'étude à 110°.

CHROMATOGRAPHIE QUALITATIVE.

Mode opératoire.

On utilise des feuilles de papier de 13 cm. de large sur 26 cm. de haut. A cinq centimètres de la base on trace un trait parallèle à celle-ci. Sur cette droite on marque des points à partir de 2 cm. du bord, et ensuite tous les trois centimètres. Sur ces points sous déposons : de petites gouttes de la solution à étudier. Celle-ci contient : arabinose, xylose, ribose, rhamnose ; nous déposons également en un point une solution d'arabinose ; 2p. 1000. Ces opérations sont faites à l'aide de micro-pipettes calibrées. Si la solution est suffisamment diluée, nous déposons plusieurs gouttes en attendant chaque fois que la goutte précédente soit complètement sèche ; cette dessication est rapide si on opère sur une platine chauffante, que nous recouvrons d'une plaque de porcelaine pour ne pas salir les chromatogrammes.

On procède à une chromatographie descendante de 48 heures avec le Solvant I et à une chromatographie ascendante de 24 heures avec le Solvant II.

Les deux chromatogrammes sont révélés par le réactif à l'oxalate d'aniline. On peut effectuer une chromatographie à deux dimensions en combinant l'action de ces deux Solvants.

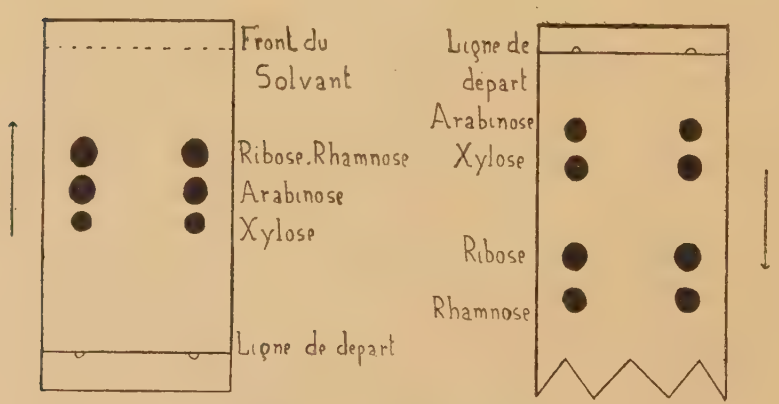

Fig. 5. — *A gauche* : Chromatogrammes obtenus avec le solvant II, chromatographie ascendante de 24 heures ; *à droite* : chromatogrammes obtenus avec le solvant I, chromatographie descendante de 48 heures.

Résultats.

Par la révélation des spots avec le réactif à l'oxalate d'aniline, les pentoses donnent des taches rouges bien séparées ; chacun de ces sucres peut être caractérisé par son R_A ou son Rf. Partridge, le premier, a bien montré ce phénomène, Les résultats de cet auteur, que nous avons reproduits, sont résumés dans les figures nº 5 et 6.

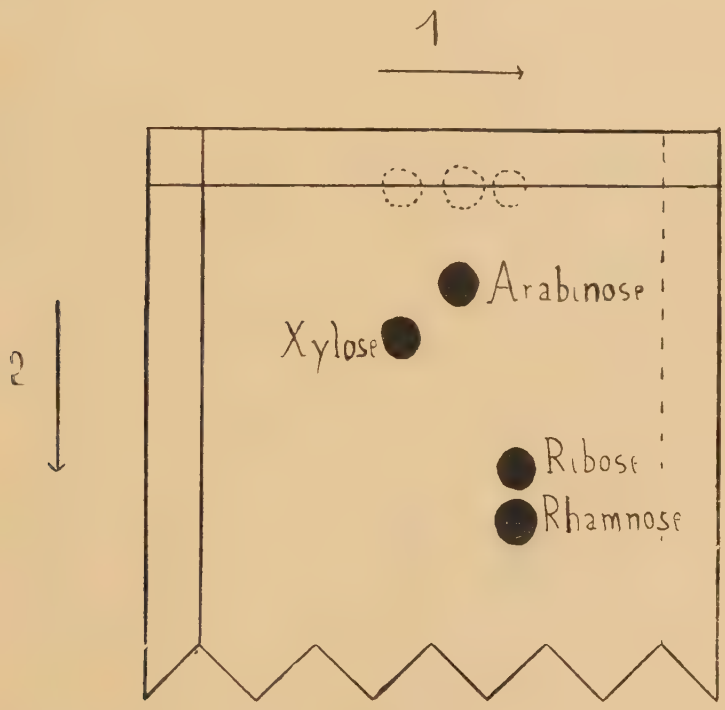

Fig. 6. — *Chromatographie à deux dimensions.* Sens 1 : chromatographie ascendante de 24 h. avec le phénol ammoniacal ; Sens 2 : chromatographie descendante de 48 h. avec le butanol ammoniacal.

CHROMATOGRAPHIE QUANTITATIVE.

Supposons que la solution à étudier contienne de l'arabinose et du xylose. Connaissant la quantité d'arabinose utilisé comme témoin, on déduit la quantité de xylose et d'arabinose de la solution à étudier.

Mode opératoire.

On dépose sur un chromatogramme un certain nombre de millimètres cubes de solution à étudier : soit 10 mm³. En des points voisins, on dépose 5, 10 et 15 mm³ de solution d'arabinose à 2 p. 1000, soit des quantités d'arabinose de 10, 20 et 30 γ. On fait une chromatographie ascendante de 48 heures avec le Solvant I. On révèle à l'oxalate d'aniline.

Résultats :

On peut déterminer approximativement le taux de la solution en chacun des sucres. Pour cela, on compare les taches fournies par la solution témoin d'arabinose et par la solution à étudier. Par la comparaison et l'appréciation de la grosseur des taches, on peut, comme l'indiquent Gibbons et Boisonas [55], et comme l'a fait Polson [56] pour les acides aminés, apprécier à l'aide de solutions témoins de concentration décroissante à combien de γ correspond la tache fournie par le sucre étudié.

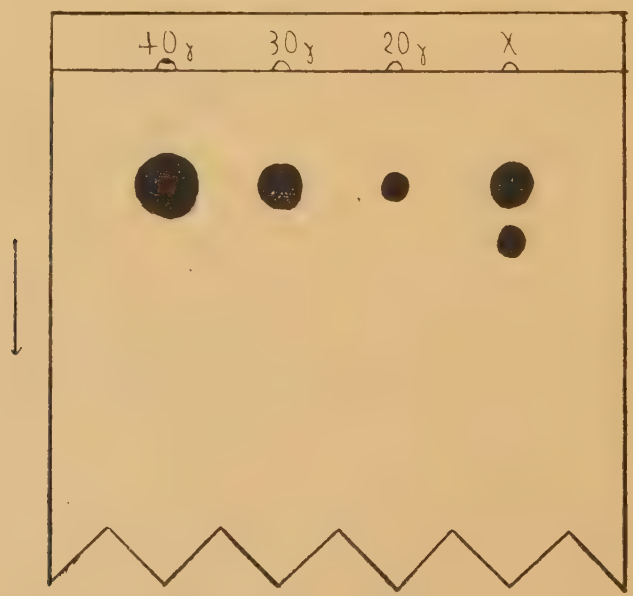

Fig. 7. — Chromatographie descendante de 24 heures avec le phénol ammoniacal de quantités croissantes d'arabinose.

En exagérant dans la figure nº 7 ci-contre, par un souci de clarté, la différence qui existe entre l'importance respective des taches, on voit que l'on peut dire que nous avons dans les 10 mm³ de solution étudiée :

30 γ d'arabinose et 30 γ de xylose,

soit 3 g p. 1000 d'arabinose et

2 g p. 1000 de xylose.

Transformations des vins en solutions propres à la chromatographie pour l'étude des sucres.

PRINCIPE.

Il est sensiblement le même que celui que nous avons indiqué lors de l'étude du saccharose dans les jus de raisins. Il visera à obtenir, à partir des vins, une solution des sucres qui y sont présents. La seule différence tient à ce que le traitement que nous avons indiqué, devra pour être efficace, être précédé d'une élimination de l'alcool.

MODE OPÉRATOIRE.

Rappelons-le brièvement.

500 ml. de vin sont soumis, après neutralisation par NaOH 4N, à une distillation pour chasser l'alcool. Quand tout l'alcool est parti, on continue cette distillation jusqu'à concentration du vin au volume de 100 ml.

A ces 100 ml. refroidis, on ajoute 50 ml. d'extrait de Saturne. On mélange, on centrifuge. On recueille le liquide surnageant. Le précipité est remis en suspension dans 100 ml. d'eau distillée. On centrifuge. On recueille le liquide surnageant. On opère de même une seconde fois. On mélange les trois liquides ainsi obtenus.

On ajoute à cette solution 50 ml. d'une solution saturée de sulfate de sodium. On mélange. On fait passer dans le mélange un courant de CO^2 pendant cinq minutes. On laisse reposer quelques heures (dans nos expériences : une nuit). On filtre. On lave bien le récipient : les eaux de lavage sont filtrés sur le même filtre. Le filtre est à son tour lavé avec de l'eau distillée.

La solution obtenue est évaporée sous vide à $T^o = 50^o$ jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu est trituré au mortier avec du

sulfate de soude anhydre en quantités suffisantes pour obtenir une poudre bien divisée.

Cette poudre est triturée dans un mortier avec 25 ml. de pyridine bien sèche, pendant dix minutes. On filtre sur papier. On lave le filtre avec de la pyridine. La solution pyridinée est évaporée à 3 ml. environ à basse température grâce à l'emploi d'une lampe à rayons infra rouges et d'un courant d'air produit par un ventilateur.

Le résidu est utilisé pour une étude chromatographique.

DISCUSSION DE CETTE TECHNIQUE.

Nous l'avons indiqué pour l'étude du saccharose dans la vigne.

Les méthodes utilisées.

Au cours de notre travail nous avons effectué diverses déterminations. Nous avons utilisé différentes méthodes :

Ce sont :

— Détermination du degré alcoolique.
— Dosage des sucres réducteurs.
— Dosage des pentoses.
— Techniques chromatographiques.

Le dosage des sucres réducteurs et celui des pentoses s'effectuent sur la même prise d'essai.

DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS TOTAUX.

Ils ont été effectués par la méthode de G. Bertrand.

DOSAGES DES PENTOSES

Principe.

Ils ont été effectués sur la liqueur obtenue après défécation au plomb et élimination du plomb en excès. Nous n'avons ainsi dosé que les pentoses, les pentosanes susceptibles d'exister dans le vin ayant été éliminés. Nous avons opéré sur une quantité de cette solution correspondant à 250 ml de vin.

Nous l'avons effectué par transformation en furfural sous l'action de l'acide chlorhydrique à 12 % comme l'ont indiqué plusieurs auteurs : Weiwers [47], Schaffer et Arbenz [49], Toricelli [57], Von der Heide et Burkard [64], Tarentola [53].

Le furfural formé est distillé et peut être dosé ensuite par sa combinaison avec divers réactifs. Nous avons utilisé le procédé pondéral de Unger et Jager [58] qui consiste à le combiner avec l'acide barbiturique. Tarentola a d'ailleurs estimé que ce procédé est le meilleur dans le cas des vins.

Mode opératoire.

Une quantité de solution déféquée correspondant à 250 ml. de vin est concentrée à un volume de 50 ml.

Le liquide concentré est placé dans un ballon de 500 ml muni d'un entonnoir à robinet, d'une colonne rectificatrice et d'un réfrigérant descendant. On chauffe ; on éloigne les gaz chauds du ballon par l'emploi d'un diaphragme d'amiante ou simplement de carton. On ajoute 50 ml d'acide chlorhydrique à 12 % et 23 ml d'acide chlorhydrique pur. On distille 30 ml en dix minutes ; toutes les dix minutes on ajoute, par l'entonnoir, 30 ml d'acide chlorhydrique à 12 %. On opère ainsi une dizaine de fois. On vérifie qu'il ne se forme plus de furfural en déposant une goutte du distillat sur un papier imprégné d'acétate d'aniline ; s'il y a du furfural dans le distillat, on obtient une coloration rouge du papier.

Aux 300 ml de distillat, on ajoute 50 ml d'une solution d'acide barbiturique à 5 p. 1000 dans l'acide chlorhydrique à 12 %. On laisse reposer 12 heures. On recueille le précipité sur filtre en verre fritté préalablement séché et taré. On lave le précipité avec 100 ml d'eau distillée et on sèche à 110°. Soit p le poids du précipité. On aura :

$p \times 1{,}062 =$ poids de pentose danx la prise d'essai, exprimé en arabinose.

TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES.

Nous avons vu le résultat obtenu avec des solutions pures de sucres. Nous avons vu ensuite comment on pouvait transformer les vins en solutions propres à la chromatographie sur

papier. Nous allons voir maintenant comment on opère d'une façon générale pour obtenir des résultats valables ; nous verrons ensuite comment exprimer les résultats chromatographiques.

Principe.

Au cours des nombreuses manipulations que subit le vin avant d'être transformé en solutions propres à la chromatographie, les pertes en sucres sont considérables et inconstantes, même si l'on opère avec les précautions les plus grandes ; ces pertes sont dues surtout au transvasement du petit résidu si rupeux du ballon à concentration dans le mortier où s'affectuera la dessication au sulfate de soude anhydre. Les chiffres trouvés, par appréciation chromatographique sont beaucoup trop faibles par rapport à la réalité ; et le rapport entre les valeurs trouvées et les valeurs réelles peuvent varier énormément d'une fois à l'autre.

Nous avons adopté le principe d'un dosage par comparaison avec un sucre témoin, normalement absent du vin, que nous introduisons dans le vin, avant toutes opérations, en quantités connues. Le dosage de ce sucre par chromatographie nous donne la valeur des pertes subies. Les quantités des autres sucres trouvés par chromatographie devront être multipliées par ce coefficient. Nous avons choisi à cet effet le ribose ; ce sucre n'a été retrouvé dans aucun vin par essai qualitatif ; il se prête donc à une recherche quantitative des autres sucres. De plus, il se sépare bien des autres sucres.

Mode opératoire.

On part de 250 ml de vin, auxquels on ajoute 0,5 g de ribose pur. On élimine l'alcool, on défèque au plomb, on élimine le plomb en excès. On dessèche, on reprend par la pyridine. On concentre la solution pyridinée à 2 ml. On effectue une chromatographie qualitative, puis quantitative.

Au lieu d'utiliser comme témoin une solution d'arabinose à 2 p. 1000 on utilise une solution d'arabinose à 2 p. 1000 et de ribose à 2 p. 1000.

Indication des résultats.

Dans les résultats nous ne donnerons pas, pour les divers sucres trouvés, des valeurs en milligrammes. Des chiffres pour-

aient prêter à confusion et laisser croire à un dosage rigoureux et précis. Il ne s'agit que d'une approximation, qui cependant permet de se faire une idée qu'aucune technique n'avait permise jusqu'alors.

Nous désignerons par le symbole : « — » l'absence totale d'un sucre d'une façon certaine.

Par le symbole : « ? » l'obtention pour un sucre d'une tache très faible, mal délimitée, dont on ne peut tirer aucune conclusion certaine.

Le symbole : « ± » signifiera la présence certaine d'un sucre, mais à un taux très faible, ne dépassant pas 100 mg p. 1000 et même pouvant être beaucoup plus basse, dans qu'on puisse l'apprécier justement.

Enfin, les résultats positifs seront indiqués par des croix : +. Le nombre de croix désigne l'importance du sucre.

Une croix signifie une valeur de 100 mg par litre.

RÉSULTATS

Vins de Bordeaux.

Notre expérimentation a porté sur quelques vins rouges de la région bordelaise : vins du Médoc, vin de Saint-Émilion et vins rouges ordinaires des côtes de Sainte-Foy-la-Grande. Nous avons également expérimenté sur quelques vins blancs. Volontairement, nous avons laissé de côté les grands vins blancs du Sauternais, trop riches en sucres fermentescibles, et nous avons étudié seulement quelques vins blancs secs, ayant subi une fermentation complète : ils proviennent soit de La Tresne, soit de Sainte-Foy-la-Grande.

Des résultats obtenus et exposés dans le tableau N° XXVI, nous pouvons conclure que :

— Le taux de sucres réducteurs persistant dans les vins qui ont subi une fermentation complète est assez variable, mais toujours faible et compris entre 0,35 et 1,10 g par litre.

— La majeure partie de ces sucres réducteurs est constituée de pentoses, comme l'ont montré depuis longtemps les dosages chimiques comparés. Le pourcentage le plus faible trouvé est de l'ordre de 5/6 de pentoses par rapport aux sucres réduc-

TABLEAU XXVI

Les sucres résiduels des vins de la région bordelaise.

Provenance	Cru	Couleur	Année	Degré alcoolique	Sucres réducteurs g. p. 1000	Pentoses (en arabinose g. p. 1000)	CHROMATOGRAPHIE				
							Arabinose	Xylose	Rhamnose	Glucose	Fructose
Côte de Ste-Foy	Côtes de Bordeaux	rouge	1950	11°	1,01	0,98	9 +	±	—	±	±
—	—	—	1951	10°5	1,10	1,04	10 +	?	—	±	±
St-Pey-d'Armens	Saint-Emilion	—	1949	11°1	0,93	0,89	9 +	—	—	±	—
St-Hyppolyte	—	—	1943	12°1	0,74	0,68	7 +	?	—	±	—
Cht Haut-Carmail	Médoc	—	1947	11°2	0,53	0,50	5 +	—	—	?	?
Cht Coufranc	—	—	1945	11°	0,35	0,30	3 +	±	—	±	—
La Tresne	1res Côtes de Bordeaux	blanc	1950	10°	0,48	0,42	4 +	?	—	±	±
—	—	—	1951	10°5	0,63	0,57	5 +	?	—	±	±
Côte de Ste-Foy	Côtes de Bordeaux	—	1949	11°	0,87	0,83	8 +	?	—	±	±
	—	—	1950	10°5	0,52	0,48	5 +	?	—	±	±

teurs totaux. Le pourcentage le plus élevé est de l'ordre de 97/100 de pentose.

— Par étude chromatographique, nous avons vu que l'arabinose est le pentose essentiel des vins. Les valeurs approximatives trouvées pour ce sucre ont toujours été de l'ordre de grandeur de celles trouvées pour les pentoses totaux par les méthodes chimiques. Prenons par exemple le vin Château Haut-Carmail (Médoc) de l'année 1947. Le taux de pentoses totaux par les méthodes chimiques est de 0,50 g par litre. Le taux d'arabinose trouvé par les méthodes chromatographiques est de l'ordre de 5 + soit, d'après nos conventions, de 500 mg par litre. De même un vin rouge de Bordeaux, côtes de Sainte-Foy-la-Grande titre 0, 98 g par litre de pentoses et 9 + d'arabinose, soit entre 900 et 1000 mg par litre.

— Le xylose semble être le seul pentose en dehors de l'arabinose ; c'est du moins ce qui ressort des vins que nous avons étudiés. Ce sucre n'est pas retrouvé d'une façon constante ; quand on le retrouve, il est d'ailleurs chaque fois à très faible dose. Sur dix vins examinés, deux seulement se sont montrés sûrement exempts de xylose ; six vins nous ont paru douteux, nous ne pouvons pas conclure sur eux ; deux vins contiennent avec certitude du xylose à un taux très faible. Ce taux est toujours inférieur à 50 mg par litre.

— Contrairement à ce que certains auteurs avaient avancé, nous n'avons jamais retrouvé de rhamnose.

— A côté des pentoses, on trouve le plus souvent dans les vins qui ont subi une fermentation totale, des restes de sucres fermentescibles : glucose et lévulose. Un seul vin nous a paru douteux pour la présence de ces deux sucres. Trois vins ne renferment pas de lévulose, mais renferment de très faibles quantités de glucose, de l'ordre de quelques dizaines de milligrammes par litre. Enfin, six vins ont montré la présence simultanée de glucose et de lévulose. Ces deux sucres sont toujours en très faibles proportions.

Vins d'Alsace.

Le tableau XXVII montre que les résultats que nous indiquons diffèrent de ceux de Fellenberg et de Schaffer et Arbenz. Ces

TABLEAU XXVII

Les sucres résiduels des vins d'Alsace

Provenance	Cru	Couleur	Année	Degré alcoolique	Sucres réducteurs g. p. 1000	Pentoses (en arabinose) g. p. 1000	CHROMATOGRAPHIE		
							Arabinose	Xylose	Rhamnose
Alsace	Riessling	blanc	1948	14°3	2,80	0,65	6 +	—	—
—	Sylvaner	—	—	13°8	2,10	0,68	7 +	—	—
—	Tokay d'Alsace	—	—	14°2	4,05	0,54	5 +	—	—

auteurs avaient trouvé, à côté de l'arabinose, des méthylpentoses qu'ils avaient identifié avec le rhamnose. Nous n'avons jamais trouvé ce pentose dans les vins de la région bordelaise. Ces auteurs avaient travaillé sur des vins de Riessling ou de Sylvaner, cépages blancs de régions froides, assez différents de nos Semillon et Sauvignon. Nous avons voulu refaire nos expériences sur ces mêmes vins, pour savoir si l'existence du rhamnose au titre des sucres des vins est une erreur des auteurs ou, au contraire, s'il est caractéristique de certains cépages.

Notre étude a porté sur trois vins d'Alsace achetés dans le commerce sous les appellations : Riessling, Sylvaner, Tockay d'Alsace, de l'année 1948.

Ces vins contiennent des quantités appréciables de sucres réducteurs. Par contre, ils sont peu riches en pentoses. Leur degré alcoolique est assez élevé.

De même que dans les vins de la région bordelaise, nous n'avons pu identifier comme pentose que l'arabinose. Ce glucide semble représenter seul la quantité de pentoses dosés par les méthodes chimiques.

Pour ce qui est des sucres réducteurs, ils sont essentiellement constitués par du glucose et du lévulose. Ces deux sucres semblent être en quantités à peu près équivalentes.

CONCLUSIONS

Par l'étude des sucres résiduels des vins après fermentation complète, nous avons voulu déterminer la nature des sucres infermentescibles des raisins. Par suite de leur taux très faible, il n'est pas possible de les étudier directement ; une élimination préalable des sucres fermentescibles s'impose ; les vins secs représentent donc le point de départ nécessaire à cette étude.

Nous avons tout d'abord mis au point une technique de recherche et de dosage des sucres infermentescibles, essentiellement des pentoses ; nous avons utilisé la chromatographie de partage sur papier ; nous avons indiqué un traitement des vins pour les rendre propices à une telle étude.

Nous avons étudié quelques vins de la région bordelaise, ce qui n'avait jamais été fait. Nous avons montré que :

— Les pentoses se trouvent à des taux faibles dans tous les vins : 0,30-1 g par litre. L'arabinose en représente la partie essentielle. Nous avons trouvé quelquefois des traces de xylose. Nous n'avons pas trouvé de méthylpentoses, tels que le rhamnose, contrairement à certains auteurs qui avaient remarqué sa présence dans les vins du Rhin.

— Chez des vins qui ont terminé leur fermentation normale, on retrouve le plus souvent des traces de glucose et de lévulose.

Surpris par les différences de nos travaux et de ceux de Von Fellenberg nous avons étudié par notre technique quelques vins d'Alsace, bien différents des vins de notre région. Nous n'avons pu mettre en évidence au titre des pentoses que de l'arabinose.

LES GLUCIDES DE LA POMME

HISTORIQUE

La méthode que nous avons indiquée dans la première partie de ce travail peut être utilisée d'une façon très générale à l'étude des sucres des fruits. Elle nous permet de nous rendre compte tout d'abord de la quantité des divers glucides de ceux-ci, puis de déterminer les proportions respectives de ces sucres. On détermine ainsi directement la totalité des sucres de ces fruits. Nous avons, en particulier, appliqué cette méthode à l'étude des glucides de la pomme.

Divers auteurs, Gerber [59], Brown [60], puis Magness et Dielh [61] ont étudié la transformation des sucres dans la pomme.

Archbold [62] a étudié la teneur en glucides des pommes Bramley's Seedling en 1932. Il constate que de juin à novembre la concentration en oses et en saccharose augmente ; cette dernière baisse pourtant sensiblement en fin de saison. Le maximum de sucres solubles coïncide avec la fin de la croissance et la date optima de récolte. Cet auteur donne des résultats exprimés sous forme de courbes, à divers moments de la maturation, pour les trois sucres qu'il signale : glucose, lévulose, saccharose. Nous en extrayons les valeurs approximatives du tableau N° XXVIII.

Krotkov et Nelson [63] ont étudié le métabolisme glucidique des pommes Mc. Intosh. Ils constatent que dans une première période il y a augmentation du glucose et du lévulose ; dans une deuxième période, il y a augmentation du lévulose ; dans une troisième période il y a augmentation du saccharose et du lévulose ; dans une quatrième période, il y a augmentation du saccharose et du lévulose ; dans une cinquième période il y a augmentation du lévulose et du saccharose ; dans une sixième et dernière période il y a diminution du saccharose et augmentation du glucose et du lévulose. Ces auteurs donnent des résultats exprimés sous forme de courbe pour le glucose, le lévulose et le saccharose qu'ils signalent comme seuls sucres des pommes. Nous en extrayons les valeurs approximatives du tableau N° XXIX.

TABLEAU XXVIII

Teneur en glucides des pommes Bramley's Seedling d'après Archbold et Mc. Intosh (Krotkov et Nelson)
g/100 g fruits

		Juin	Août	Novembre
Glucose	Bramley	0	1	1
	Mc. Intosh	0	1,5	2
Lévulose	Bramley	0	3	4
	Mc. Intosh	0	3	6
Saccharose	Bramley	0	2	2
	Mc. Intosh	0	1,75	4
Sucres totaux	Bramley	0	6,75	8
	Mc. Intosh	0	7	12,5

Enfin, de nombreux auteurs n'ont considéré que des points particuliers du métabolisme glucidique. Ulrich [64] en particulier étudia les pommes Calville, en collaboration avec Renac et Lafond.

***

Il ressort des travaux d'Archbold et de ceux de Krotkov et Nelson en particulier, que les sucres totaux déterminés par les méthodes chimiques habituelles semblent être en quantités légèrement supérieures à la somme des trois sucres indiqués par ces auteurs. Il est possible qu'il y ait d'autres sucres que le glucose, le lévulose et le saccharose, mais à des doses faibles, de sorte que ces sucres sont passés inaperçus à ces auteurs ; une recherche systématique des divers sucres est difficile et peu sûre par les méthodes usuelles.

La chromatographie de partage sur papier permet une recherche sensible et détaillée des sucres ; elle a semblé devoir nous donner satisfaction. Partridge [38] l'appliqua à l'étude des pommes, après purification des jus de ces fruits par l'alcool et

passage sur des échangeurs d'ions ; il n'a cependant trouvé que les trois sucres précédents, soit :

glucose : 2,5 g p. 100
lévulose : 3,4 g p. 100
saccharose : 0,7 g p. 100

Nous avons repris la question en soumettant les jus de pommes à une purification plus poussée, en vue d'une étude chromatographique. Celle-ci nous a permis de mettre en évidence d'autres sucres.

Chromatographie de partage sur papier des glucides.

Nous avons opéré, selon les données de PARTRIDGE [38] avec le papier à filtration lente Durieux N° 122.

SOLVANTS.

Identiques à ceux utilisés pour l'étude du saccharose.

RF

Nous indiquons dans le tableau N° XXIX les Rf des sucres que nous avons trouvés dans la pomme.

TABLEAU XXIX
Rf des sucres.

	glucose	lévulose	Saccharose	Mannose	Xylose
SOLVANT I	0,07	0,10	0,02	0,10	0,125

RÉVÉLATEURS.

Identiques à ceux utilisés pour l'étude du saccharose.

Transformation des jus de pommes en solution propre à la chromatographie sur papier.

Nous opérons sur une macération aqueuse de la pomme pulpée, exactement comme pour les jus de raisins.

Généralités sur les méthodes employées.

Pour chaque pomme nous avons déterminé :

le pH du jus, l'acidité en milliéquivalents, les sucres totaux, les sucres réducteurs et les proportions des différents sucres en grammes ; toutes ces valeurs ont été ramenées à une pomme.

pH du jus.

Il a été déterminé à l'aide d'un pH mètre électrométrique.

Acidité de titration.

Elle a été déterminée par neutralisation par la soude titrée en amenant à pH 7 à l'aide d'un pH mètre électrométrique.

Sucres réducteurs.

Ils ont été obtenus par détermination du pouvoir réducteur par la méthode de Bertrand après défécation.

Sucres totaux.

Ils ont été obtenus par détermination du pouvoir réducteur par la méthode de Bertrand après défécation et hydrolyse acide de la solution.

Glucose et lévulose.

Le pourcentage respectif de ces sucres a été déterminé en fonction du pouvoir rotatoire de la solution et de la quantité de sucres réducteurs de cette solution, compte tenu des autres sucres trouvés par chromatographie.

Saccharose.

Il a été déterminé, d'une part par différence entre les sucres réducteurs avant et après hydrolyse acide, d'autre part par chromatographie.

Autres sucres.

Ils ont été déterminés par chromatographie.

Nous apprécions leurs proportions respectives à l'aide de croix. Une croix « + » représente environ un taux de 100 mg pour une pomme.

RÉSULTATS

Notre étude a porté sur des pommes récoltées le 15 novembre 1951, et abandonnées à l'obscurité dans un endroit frais quatre mois. Nous avons étudié trois espèces différentes : Reinette du Mans, Senator, Benauge.

TABLEAU XXX

Teneur en glucides des pommes

Espèce	Reinette du Mans	Sénator	Benauge
Poids d'une pomme en g	84	73	78
pH du jus	4,5	4,6	5
Acidité en méq.	6,40	6,05	1,1
Sucres réducteurs en g.	3,59	5,20	4,20
Sucres totaux en g.	3,73	5,45	4,32
Glucose en g.	1,05	1,30	1,35
Lévulose en g.	2,22	3,60	2,70
Saccharose en g.	0,15	0,25	0,12
ETUDE CHROMATOGRAPHIQUE			
Saccharose	+	+++	++
Mannose	+	+	< +
Xylose	++	++	+

Tous les résultats sont rapportés à une pomme et assemblés dans le tableau N° XXX. Ils montrent que :

— Le glucose et le lévulose sont les sucres les plus importants de la pomme. Le lévulose est en quantité sensiblement égale au double du glucose.

— A côté de ces deux sucres on trouve :

— Du mannose à des taux très faibles, ne dépassant pas 100 mg par fruit ;

— Du xylose à des taux variant de 100 à 200 mg par fruit ;

— Du saccharose à des taux variant de 100 à 300 mg par fruit.

CONCLUSIONS

Nous avons appliqué la technique mise au point dans la première partie de notre travail à l'étude des glucides de la pomme, pour montrer qu'elle pouvait être utilisée d'une façon générale à l'étude des sucres des fruits.

Elle nous a permis de mettre en évidence et d'apprécier les quantités de sucres qui existent dans ce fruit en quantités très faibles. Nous avons montré l'existence, à des taux de l'ordre de 100 à 200 mg par fruit, de sucres ignorés jusqu'alors : le mannose et le xylose. Nous avons simplement vérifié que les chiffres trouvés pour le glucose, le lévulose et le saccharose, depuis longtemps connus dans ce fruit, correspondaient aux valeurs indiquées par les autres auteurs.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous nous étions proposé d'étudier les glucides de la vigne et de compléter par l'apport de techniques nouvelles nos connaissances sur un sujet aussi discuté. Alors que certains glucides étaient bien connus, tels l'amidon, le d. glucose, le d. fructose, l'étude de d'autres était rendue très difficile et incertaine par l'insuffisance des techniques de recherches. Ces derniers ont donné lieu à de très nombreux travaux contradictoires ; ce sont le saccharose et les pentoses.

Nous avons mis à profit les récents et rapides progrès réalisés dans l'étude des sucres depuis la découverte de la chromatographie de partage sur papier. Nous avons sensibilisé ces méthodes pour la recherche du saccharose ; nous l'avons rendue plus spécifique par une chromatographie à deux dimensions, avec hydrolyse in situ de ce sucre après chromatographie dans le premier sens. Nous avons indiqué une méthode de purification des extraits végétaux et des liquides de fermentation de ces extraits en vue d'une étude chromatographique correcte de leurs sucres solubles.

Nous avons étudié la distribution et l'évolution du saccharose dans les divers organes de la vigne. Nous avons montré que ce sucre est le glucide le plus important des feuilles; il semble résulter de la photosynthèse. Il représente la principale forme de transport des glucides dans la plante. Il ne se retrouve dans les baies qu'à l'état de traces, par suite de la présence dans cet organe d'invertine ; mais sa précence y est constante. Nous en avons étudié en détail les variations en fonction des nombreux facteurs capables d'influer sur la composition chimique de la plante. Enfin nous avons vu qu'il représente la forme soluble d'accumulation des glucides au moment de l'aoûtement.

L'étude des pentoses du raisin nous a conduit à montrer qu'ils existent à un taux très faible et sont, le plus souvent, essentiellement constitués par de l'arabinose. La nécessité d'opérer sur des jus de raisins fermentés, pour se débarrasser de la masse importante du glucose et du lévulose, nous a conduit à étudier les sucres résiduels des vins. Nous avons montré que des vins après fermen-

tation totale renferment encore, outre les pentoses, des traces de d. glucose et de d. fructose.

Les techniques mises en œuvre nous ont donc permis de compléter nos connaissances sur les glucides de la vigne, en précisant la nature des pentoses ainsi que la distribution et l'évolution du saccharose dans les organes de la plante. Ces techniques permettent d'envisager une étude plus approfondie des sucres des fruits en général. Nous avons voulu le montrer en prenant comme exemple les pommes. Nous avons indiqué la présence de deux nouveaux sucres dans ce fruit : le d. mannose et le d. xylose.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gayon et Dubourg. — *Revue de Viticulture.* T. V (1896), p. 384.
2. Petit. — *C. R.* 69-760, 1869.
   Petit. — *C. R.* 77-944, 1873.
3. Maccagno. — *Staz sper Agr.* It. 179, 1877.
   Maccagno. — *C. R.* 85-763, 1877.
4. Kayser. — *Vermch-St.* (L. V. St) 29-461, 1885.
5. Ross et Thomas. — *C. R.* 104-593, 1887.
6. Hilger et Roos. — *L. V. St.* 33-170, 1887.
7. Perrey. — *C. R.* 94-1124, 1882.
8. Martinand. — *Revue de Viticulture.* 52, 1907.
9. Paris. — *Principi theorici di tecinca agraria.* p. 46, 1931.
10. Barbera. — *An. Chim. Appl.* 23-99, 1933.
11. Venezia. — R. Stazione Sperimentale de Viticultura e di Enologia di Conegliano (*Sulla distribuzione del saccarosio nella Vite*).
12. Bergellini. — Imprego degli enzimi come reallivi. *Giorn. di Chim. Appl.* p. 493, nov. 1929.
    Ath. della Soc. It. per il progresso delle scienze. I Sett. 1929.
13. Parisi et Vito. — *An. Chim. appli.* 21-223, 1931.
    Parisi et Vito. — *Ind. Sacc. It.* N° 8 (1932).
14. Bourquelot-André. — Chimie agricole. Chimie végétale I, p. 241.
15. Kindt. — *Ind. Sacch. Ital.* N° 8 (1934).
16. Mach. — *Weinlaube* 9-52, 1877.
17. Deleanos. — *Ztschr. physiol. chem.* 80-79, 1912.
18. Brown et Morriss. — *Journ. Chem. Soc.* 63, 1893, 604.
19. Went. — *Jahrber wiss. Bot.* 31, 1898, 289.
20. Parkin. — *Biochem. Journ.* 6, 1911, 1.
21. Marcacei. — *Nuovo Giorn. bot. ital.* 2, 1895, 222.
22. Beguin. — *Pharm. Act. Helvet.* 11, 1936, 202.
23. Calvin. — *Science* 1948, 107-476.
24. Calvin et Benson. — *Cold.. Spring. Harbor. Symp. Quant. Biol.* 1948, 13-6.
25. Calvin et Bassham. — *Science.* 1949, 109-140.
26. Benson, Bassham, Calvin, Goodale, Haas et Stepka. — *J. Am. Chem. Soc.* 1950, 72-1710.
27. Muller-Thurgau. — 7. *D.W.C. Dürkheim* 1882. S.19.
28. Buignet. — *Annales de chimie et de Physique.* 3e série. Tome LXI. p. 233.

29. Babo et Mach. — *Handbuch.* — 2-2, 1896.
30. Thudichum. — *Treatise of Vines,* London, 1890, p. 95.
31. Windisch. — *Dic. Chem. Unters. u. Beurt. d. Weines.* 1896, 5-2-177.
32. Borgmann et Fresenius. — *Anleitung-z. Chem. Analyse d. Weines* 1898, S-174.
33. Semichon. — *Traité des maladies des vins,* Montpellier, 1905, p. 2.
34. Laborde. — *Cours d'œnologie,* Paris 1907, p. 9-10.
35. Girard et Lindet. — *C. R.* 126-1310, 1898.
Girard et Lindet. — *Z.U.N.* 2-244, 1899.
36. Gore. — *J. Ind. Eng. Chem.* 1-436, 1909.
37. Alwood. — Enological St dies 2 à 3 U. St. *Depart of agric bur. of them Bull.* 140, p. 8-15.
Alwood. — *J. Ind. Eng. Chem.* 2-481, 1910.
38. Partridge. — *Bioch. J.* 1948, 42-238.
Partridge. — *Bioch. J.* 1948, 42-251.
39. Horrocks. — *Lancet* 1949, 256-1042.
40. Bourquelot. — *Traité de pharmacie galénique* par Goris et Liot (Editions Masson). T. I, p. 181.
41. Malpress et Morrison. — *Nature* 1949, 164-953.
42. Mathieu. — *Revue de Viticulture.* 75-13, 1900.
Mathieu. — *Revue de Viticulture.* 329, 1906 (T. 2).
43. Fallot et Michon. — *Revue de Viticulture.* 141, 1907 (T. 1).
44. Peynaud. — *Thèse Ing. Docteur,* Bordeaux, 1946.
45. Comboni. — *Le Stazioni Sperimentali Agrarie Italiane,* 1896, Vol. 29, p. 815.
46. Wittmann. — *Zeitschr. Landw. Versuchsst. Oesterreich,* 1901. 4° Jahrg. p. 1937.
47. Weiwers. — *Dissertation.* Aachen, 1906.
48. Scurti. — *Le Stazioni Sperimentali Agrarie Italiane,* 1910, vol. 43. p. 105.
49. Schaffer, Arbenz. — *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* 1914, Vol. 15, p. 161.
50. Von Fellenberg. — *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* 1912, Vol. 13, p. 213.
51. Heiduschka, Pyriki. — *Die Weine des Sachsischen Elbthales.* Dresda 1928, p. 33.
52. Gentili. — *Ann. R. Stazione Sperimentale di Conegliano.* Vol. V (134-135).
53. Tarentola. — *Le sostanze riduttrici infermentescibili dei vini,* p. 17.
Tarentola. — *Rivista di Viticoltura e di Enologia.* Anno I (1948), p. 44-47.

54. Von der Heide, Burkard. — Uber den Restzucker im Wein Zeitsch *Untersuchung Lebensmittel* 69 (1935), p. 68-73.

55. Gibbons, Boisonas. — *Helv. Chim. Acta.* 1950, 33-1477.

56. Polson. — *Biochem. et Biophys. Acta.* 1948, 2-575.

57. Toricelli. — A la recherche d'un nouveau procédé d'investigation pour déceler les vins fraudés. *Mitteilung a - d Gebiete d. Lebensmittelunters u Hygiène.* 32 (1941), p. 211-216.

58. Unger, Jager. — *Ber. Deutsch. Chem. Gesel.* 1903, 33-4440.

59. Gerber. — *Thèse Sc. nat.* Paris 1897, 279.

60. Brown. — A chemical study of the apple and its products. *Penn. Dep. Agr.* 1899, bull. 58.

61. Magness et Diehl. — Physiological studies on apples in storage. *J. Agr. Res.* 1924, 27, 1-38.

62. Archbold. — Chemical studies in the physiology of apple :
II : The nitrogen content of stored apples. *Ann. Bot.* 1925, 39, 97-107.
XII : Ripenning Processes in the apple and the relation of time of gathering to the chemical changes in cold storage. *Ann. Bot.* 1932, 46, 407-59.

63. Krotkov et Nelson. — Carbohydrate metabolisme of Mc. Intosh apples during their development on tree and in cold storage. *Canad. J. Res.* C, 1946, 24, 126-144.

64. Ulrich, Renac, Lafond. — Observations sur la conservation et le métabolisme des pommes Calville entreposées à + 10°, de la récolte à la sénescence. *C. R. Acad. Agric.* 1949, 35, 482-5.

65. Copeman (P. R. v. d. R.). — An investigation into some Physical and Chemical Changes occuring in grapes during ripening. *Union of South Africa ; Department of Agriculture ; Division of Chemistry Series* n° 31 ; *Science Bulletin* n° 30 (1924).

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 9

LE SACCHAROSE DANS LA VIGNE

Historique 10
Etude chromatographique de solutions pures de glucose, lévulose et saccharose 16
Méthode de purification des extraits végétaux en vue d'une étude chromatographique 26
Introduction à l'étude de la distribution du saccharose 31
Le saccharose dans les feuilles 34
Le saccharose dans les pétioles 36
Le saccharose dans les baies de raisins 38
Actions fermentaires dans la baie de raisin 54
Le saccharose dans les tiges 58
Le saccharose dans les racines 59
Interprétation des résultats 60
Conclusions 61

LES PENTOSES DU RAISIN

Historique 63
Etude chromatographique de solutions pures de pentoses 66
Méthode de purification des liquides de fermentation des jus de raisins en vue d'une étude chromatographique 71
Généralités sur les méthodes utilisées 72
Résultats 75
Conclusions 79

LES GLUCIDES DE LA POMME

Historique 81
Méthodes utilisées 84
Résultats 85
Conclusions 86

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 87

BIBLIOGRAPHIE 89

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

L'aoutement de la vigne.

Vu et approuvé :
Le Doyen
G. Brus.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 30 avril 1953.
Le Recteur,
E. Delage.

Nemours. Imp. A. Lesot. 25-10-53 — Dépôt légal : 53.4.286.